HORS SÉRIE, VOL. II. 1960

BULLETIN

DE

L'INSTITUT AGRONOMIQUE

ET DES

STATIONS DE RECHERCHES

DE

GEMBLOUX

SÉRIE EXTRAORDINAIRE ÉDITÉE
À L'OCCASION DU CENTENAIRE
DE L'INSTITUT AGRONOMIQUE
DE L'ÉTAT
GEMBLOUX (BELGIQUE)

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL
8 AUG 1961

Dans le cadre des fêtes commémoratives du centenaire de la fondation de l'Institut agronomique, plusieurs colloques internationaux furent tenus à Gembloux, du 25 juillet au 4 août 1960.

Le Bulletin de l'Institut agronomique et des Stations de Recherches de Gembloux est heureux de publier les communications qui furent présentées à cette occasion.

L'ensemble des diverses conférences est réuni dans trois volumes paraissant hors série. La table générale des matières est placée à la fin du troisième volume, chaque volume étant accompagné de son propre sommaire hors texte.

Le dernier volume sortira de presse dans le courant du mois de juin 1961.

Le prix de chaque volume est fixé à 250 F.B., somme à verser au Compte de Chèques postaux n° 7621.08 Patrimoine — Bulletin de l'Institut agronomique de Gembloux (Belgique), ou à payer par mandat postal.

Les articles sont publiés sous la seule responsabilité de leurs auteurs.

Toute reproduction des articles parus est strictement interdite sans autorisation du comité de rédacttion.

COLLOQUE SUR LE REFROIDISSEMENT DU LAIT À LA FERME

ORGANISÉ EN COLLABORATION AVEC L'OFFICE NATIONAL DU LAIT
ET LA STATION LAITIÈRE DE L'ÉTAT A GEMBLOUX

Gembloux, 28 juillet 1960

PRÉSIDENT DU COMITÉ ORGANISATEUR :

Professeur R. COPPENS
Institut agronomique, Gembloux

Bulk Collection and Handling of Milk

by J. G. Davis
Consultant, London (Royaume-Uni)

and T.R. Ashton
Director (Technical), Express Dairy Co. Ltd.
London (Royaume Uni)

Introduction

In Britain there has been an almost complete revolution in the method of collection and distribution of milk in the past 50 years. Formerly milk was handled in small quantities by many retailers and sold raw. To-day about 94 % of all the milk is either pasteurized or sterilized. A few large firms handle most of the milk and nearly all of this is conveyed by rail or road tankers of 13,400 litres capacity from the country collecting depots to the highly populated consuming areas around London, Birmingham, Lancashire and other cities. Milk may be transported up to 500 km. every day.

There are in this country three systems of handling and transporting liquid milk prior to its being bottled and distributed for liquid consumption, or manufactured into milk products, these being :

1. Milking the cow, by machine or hand, putting the milk into cans, with or without cooling, and transporting the milk in cans to a processing dairy.
2. Milking and filling into cans as above, and transporting to a central depot, where the milk is cooled to about 3° C., bulked and transported to the processing depot in insulated tankers.
3. Milking, as above, the milk being cooled to 3° C. on the farm and collected from the farm by insulated tankers, these tankers delivering the milk directly to the processing depot.

Of the above, only systems 2 and 3 fall within the scope of this paper, with system 2 being the most widely practised at the moment.

The evening and morning milkings are normally collected during the morning in 45 litre cans or by small tanker (bulk collection from farms) and the milk arrives at the creamery or country collecting depot from about 9 up to about 13 hr. Cans are examined by odour and, where necessary, by the 10 minute reaszurin test (Davis 1959) before

tipping. The milk is strained and immediately cooled by brine to about 3° C, and pumped into tankers which are insulated but not refrigerated. For journeys of over 160 km. most milk goes by rail but for shorter journeys road tankers are quicker and are preferred, as the dairy has more control over their movements. The tankers arrive at the town pasteurizing depot during the evening or night and the milk is pasteurized or sterilized the following day. Due to the large bulk the temperature rises only to about 4° C during this 18 hr. period. The bottled milk is despatched immediately to the cold stores of the retail dairies in the consuming area. The temperature of holding is about 4° C, in summer and 6° C in winter. Delivery to the customer is made the following morning. In smaller organisations and where short journeys are possible this overall period may be shortened.

Legal standards

The legal standards in Britain are given in Table 1.

TABLE 1

All milk except Channel Islands and South Devon	Fat 3.5 % Solids not-fat 8,5 %
Channel Islands and South Devon	Fat 4 % Solids-not-fat 8,5 %
T. T. raw milk	Methylene blue 4 1/2 hr. summer (1) » » 5 1/2 hr. winter (1)
Pasteurized milk	Methylene blue 1/2 hr. (1) Phosphatase — less than 2.3 L.B.U
Sterilized milk	Turbidity test —negative

Although there are no legal requirements for keeping quality, pasteurized milk is expected to keep for at least 24 hour, and sterilized milk for at least seven days at atmospheric temperature. With the best firms much longer keeping qualities are obtained.

Keeping Quality

One of the most important lessons learned by the dairy industry is that although pasteurization destroys all pathogens irrespective of the quality of the milk, a poor quality (high bacterial count) raw milk,

(1) After defined conditions of storage.

does not necessarily give a good keeping pasteurized milk, especially if the thermoduric count is high. Typical data for the keeping quality of commercial pasteurized milk to-day are given in Table 2.

TABLE 2

Keeping qualities of raw and pasteurized milk

(Ashton 1959)

FRESH RAW MILK	3.7 hr	After ageing for 1 day at 40-50° F. 2.5 hr							
M.B. reduction time									
Alcohol test	15.0 »	»	»	»	»	»	»	»	11.1 »
Clot-on-boiling	20.7 »	»	»	»	»	»	»	»	17.9 »
LOW TEMPERATURE PASTEURIZED MILK									
Alcohol test	56.4 »	»	»	»	»	»	»	»	51.0 »
Clot-on-boiling	60.1 »	»	»	»	»	»	»	»	45.7 »
H.T.S.T. PASTEURIZED MILK									
Alcohol test	66.1 »	»	»	»	»	»	»	»	58.6 »
Clot-on-boiling	71.7 »	»	»	»	»	»	»	»	64.6 »

Factors affecting keeping quality of raw milk

It has been firmly established that the most important factors controlling keeping or bacterial quality of farm milks are cooling, and sterility of utensils.

TABLE 3

The effect of different factors on K.Q. in order of importance (1)

(Davis et al. 1945a)

Pairs of treatments		Classification
a) *Experimental*	b) *Control*	
Use of surface cooler	Not cooling	Very significant
Utensils steam sterilized	Utensils only drained of milk	
Utensils steam sterilized	Utensils only washed	
Utensils sterilized with hypochlorite (2)	Utensils only drained of milk	
Utensils sterilized with hypochlorite (2)	Utensils only washed	

(1) The better treatment is listed first in pairs 1-9.

(2) Utensils sterilized with solution at 160-180° F. containing 320 p.p.m. chlorine and rinsed with water containing 40 p.p.m.

Trough cooling	Milk uncooled	Significant
Dry-handed milking	Wet-handed milking	Significant
Straining through sterilized strainer	Milk unstrained	Significant
Washing udders (1) (hypochlorite solution)	Udders unwashed	Slight or variable
Rejection of foremilk	Inclusion of foremilk	Negligible
Washing hands (1) (hypochlorite) between cows	Hands unwashed between cows	Negligible or variable
Milk unstrained	Use of unwashed strainer	Variable
Milk uncooled	Use of unwashed.cooler	Variable
Utensils sterilized with hypochlorite	Utensils steam sterilized	Variable

In all farm advisory work, therefore, these two factors should always be stressed. Other requirements are desirable, but if all utensils are properly cleaned and sterilized and the milk is immediately cooled, preferably to 5 but at least to 10° C, a satisfactory milk will be obtained. Such milk will arrive in good condition at the creamery up to 18 hr. later, can be cooled in bulk to 3° C, and transported insulated in tankers over a further 18 hr. period, and then be pasteurized to give a product of good keeping quality. In hot weather bulk milk may be « flashed » (heated momentarily to 71° C) at the collecting depot. This practice was formerly illegal but is now possible.

The effect of temperature

There are two key temperatures in the study of the keeping quality of milk. Below 6° C, the growth of bacteria is so slow that the deterioration of milk is delayed for many hours. Above 12° C growth becomes appreciable and at much higher temperatures deterioration is rapid. This point is illustrated by the data in Table 4.

TABLE 4

Milk held at °C	*Colony count after 24 hr.*
0	2,400
4	2,500
5	2,600
6	3,100
10	11,600
13	18,800
16	180,00
20	450,000
30	1,400,000,000
35	25,000,000,000

(1) 800 p.p.m. chlorine

Bulk milk collection from farms

By this term in Britain is meant the pouring of milk immediately after milking into a refrigerated tank (bulk holder) on the farm and the holding of this milk at about 4° C until collection by a small tanker, the milk being pumped direct from the farm tank into the tanker. On arrival at the processing depot the subsequent procedure is as described on p. 538.

Although of only recent general interest, bulk collection was practised to a small extent in Wiltshire, England in the 1930s. There were obviously two requisites :

1) the communications must be such that tankers can gain easy access to the milk tank or bulk holder on the farm, and
2) the equipment and methods in the farm dairy must be adequate to ensure a satisfactory bacteriological quality.

New aspects arise/because not only is all the meal (milk from one milking) bulked instead of being distributed in cans, but the tank driver has to accept or reject the whole consignment (evening and morning meals). A bulk collection is most appropriate in flat regions with large farms ; the quantities of milk involved are often considerable, e.g., 500 litres upwards from one farm.

The English authorities (Milk Marketing Board and National Institute for Research in Dairying) studied the whole problem and especially the requirements for the farm tank from 1953 onwards and specifications were issued in 1954 and 1956. In the U.S.A. a specification had already been issued (Anon. 1953). In the United Kingdom a final specification was issued jointly by all the Milk Marketing Boards (Milk Marketing Board 1957).

The main requirements are

1) ease of cleaning and sterilizing,
2) rapid cooling of the morning milk (8/13 of the daily production) to 5° C in 2 1/2 hr,
3) accurate measurement of volume,
4) strength of construction and general reliability,
5) economy in operation.

For further details of tank construction see Smith and Hall (1959).

The Scottish Milk Marketing Board started a pilot scheme in 1954 which showed that this method could be satisfactory (Chalmers 1955). The legal standards for Tuberculin-tested and Standard milks in Scotland are 200,000 per ml. colony count at 37° C and presumptive coliforms not present in 1/100 ml. A recent investigation by Thom

(1958) showed that a small percentage of the farm tank samples failed these standards. Counts at 27° C were appreciably higher than at 37° C, a fact well established, so that more farms would have failed if official colony counts were made at 27° C. Counts at both 27 and 4° C often showed big increases after storage at 4° C for 18 hr., in some cases by as much as 500 %. An interesting observation was that while 20 % of the road tanker samples had coli in 1/100 ml., the highest count obtained at 37° C was only 54,000 per ml.

Economic and other practical aspects of the scheme have been discussed by Inglis (1957).

Recent developments in bulk collection in New Zealand have been reviewed by Purvis (1959), and in the U.S.A. by Henderson (1959) and Herrmann and Agnew (1959).

The course of deterioration of milk

The speed and manner of deterioration of milk are controlled by the types of contamination, which are determined by the methods of production and handling, and by the temperature of holding. In farm supplies, which are consumed early, the former tend to be of equal or greater importance ; in bulk supplies which are consumed later the temperature of holding may be the predominating factor.

The types of bacteria initially contaminating milk vary with the level of production methods. Many papers have been published on this aspect, but very recent figures obtained by Thomas *et al.* (1960a) illustrate this point admirably (Table 5).

TABLE 5

Percentage distribution of types of bacteria
(Thomas *et al.* 1960a)

	Colony count at 30° C (thousands)					
	Less than 5	5-20	21-200	201-1000	1001-5000	*All milks*
Micrococci	69	52	30	21	19	38
Streptococci	13	14	17	7	21	15
Gram-positive rods	10	10	15	13	4	11
Coli-aerogenes	0	1	9	26	3	7
Pigmented Gram-negative rods	2	4	13	24	9	10
Non-pigmented Gram negative-rods	4	3	9	7	42	11
Aerobic sporeformers	2	12	4	1	1	5
Streptomycetes	0	1	0	0	0	0
Unclassified	0	3	3	2	1	2
No. of samples	259	567	737	213	289	2,065

Thus while micrococci predominate in low count milks, the flora of medium count milks is rather mixed, but non-pigmented Gram-negative rods predominate in very high count milks.

The streptococci and coli-aerogenes groups produce acid strongly, the micrococci and Gram-positive rods acid more weakly, and the aerobic spore-formers are weakly acidogenic but powerfully proteolytic (Thomas *et al.* 1960a).

The effect of refrigeration on the flora of raw milk

If farm raw milks are held at refrigerator temperatures (0-5° C). the distribution of types is radically altered in a day or two. The psychrophilic types become overwhelmingly predominant, so much so, that in a few days such milk can reveal a fluorescent green shimmer. This aspect has been reviewed generally by Davis (1951). A recent investigation by Thomas *et al.* (1960b) illustrates this point very clearly. (Table 6).

Table 6

Percentage distribution of bacteria in refrigerated raw milk.
(Thomas *et al.* 1960b)

Pseudomonas (fluorescent strains)	36,6
Pseudomonas (non-fluorescent strains) or *Achromobacter*	57,6
Flavobacterium	0,4
Alcaligenes	0,8
Coli-aerogenes	2,1
Arthrobacter	2,1
Yeasts	0,4
No. of cultures	235

These psychrophilic types grow steadily at 5° C but, like all types of bacteria in milk, grow comfortably in the range 29-35° C and mostly have an optimum at about 30° C. A substantial proportion of them are proteolytic in milk and practically none produces acid or alkali in milk. Most of them attack fat. Thus whereas raw milk held at 15° C or higher becomes sour, milk held at 0-5° C does not sour but becomes tainted due to the production of protein and fat break-down products.

Sterility of utensils

Milk inside the healthy udder has a count of less than 500 (McClemont and Davis 1939) and for all practical purposes the organisms in

commercial milk are derived from the utensils. Semi-official standards for the « sterility » of these have been adopted in Britain of 1 colony per sq. cm. by swab tests or ml. capacity by rinse tests (Davis 1956). Milk cooled immediately after leaving the cow to below 6° C and handled in near-sterile equipment, and kept cool, can always be pasteurized to give a safe milk of good keeping quality provided that there is no post-pasteurization contamination.

The cleaning and sterilizing of dairy equipment

Refrigeration and clean sterile utensils are equally necessary in order to guarantee a supply of bulk milk of good keeping quality fit for pasteurization. (Neave and Hoy 1943, Davis *et al.* 1945b). The semi-official standards in Britain of 1 colony per sq. cm. surface or ml. capacity appear to be adequate in the light of practical experience.

The introduction of bulk collection involves a new hazard because :

1) bulk holders may be difficult to clean and sterilize
2) the milk from several farms is mixed immediately and a bad farm supply contaminates the whole bulk. In the ordinary collection procedure unsatisfactory cans are rejected at the creamery.

Too much attention cannot be paid therefore to the cleansing of the farm tank (Thom 1958). The above standards for sterility also appear here to be adequate but the general problem is still the subject of intensive study.

While steam is the classical method, hypochlorite can give good results (Bowyer *et al.* 1945) and quaternary ammonium compounds are now permitted (Soc. Dairy Tech. 1959). It is curious that, although nitric acid is commonly used in Europe for cleaning and sterilizing dairy equipment, it is rarely used in Britain.

Bacteriological standards for bulk milk

While the rejection of cans of farm milk is not a serious matter quantitatively, the rejection of a tanker of milk (13,400 litres) is obviously a matter of considerable importance. Nevertheless some standard is necessary in order to preserve an adequate quality in the pasteurized milk. While milk of low chemical quality can be dealt with by mixing bulks, this is impossible with milk of poor bacteriological quality. In 1942-3 an extensive study of bacteriological tests was made in Britain by Ashton, Barton and Davis with a view to selection of suitable

rapid tests for checking the bacteriological quality of tanker supplies. Various « platform tests » (Barkworth *et al.* 1942, 1943) were compared with the usual dye reduction tests and bacterial counts, and on the basis of this work three quick tests were selected for control purposes, viz. 1) 10 minute resazurin, 2) titratable acidity and 3) temperature. The results of this investigation showed that the following standards were reasonable (Davis 1959) :

> Ten minute resazurin test — Not less than disc 3. Titratable acidity — Not greater than O.17 %. Temperature — Not above 6°C.

Titratable acidity is an unreliable test for farmers' milks because of the natural variation of the values in herd supplies (Davis 1955). The bulking of milk levels out the variations in initial values.

The use of temperature as a bacteriological test is of interest. In herd supplies an uncooled milk may be of low count and good keeping quality if methods of production are very good. Bulk milk is always older and the temperature after 24 hr. becomes a predominating factor in determining keeping quality (cf. Table 4). Experience has shown that raw bulk milk below 6° C can always be pasteurized satisfactorily, with the exception of freak conditions. The range of 6 to 9° C represents a « doubtful zone », and if over 9° C the milk is nearly always unfit for pasteurization. This is not because pasteurization may fail to reduce the colony count to a reasonable level, but because the milk is then nearly always tainted by the growth of bacteria and often appreciably soured. Pasteurization can kill nearly all the bacteria but does not remove lactic acid or taints.

Causes of poor keeping quality in pasteurized milk

The intensive work on milk quality control under the National Milk Testing and Advisory Scheme during 1939-45 established a much improved procedure for the whole industry on production, collection, pasteurizing and distribution. Poor keeping quality due to dirty utensils and equipment, insufficient cooling and post-pasteurization contamination was gradually reduced to negligible proportions, but certain faults remained, at any rate as a potential menace. For example, sterilization of dirty utensils leads to high thermoduric counts (cf. Thomas *et al.* 1948), which no amount of pasteurization can eliminate (cf. Clegg *et al.* 1949). Thus in one dairy whose pasteurizing licence was withdrawn it was found that 12 % of the producers were sending in milk very high in thermoduric bacteria, and coliforms were found in 4 % of the milks after pasteurization (Morris 1943). The

thermoduric organisms were mainly *Str. faecalis*, aerobic spore-formers, micrococci and *Achromobacter viscosum*. Procter (1943) similarly found that 9 % of the milks sent to one creamery contained heat-resistant coliforms. Davis and Wilby (1943) found that one coliform strain survived 16 successive pasteurizations in milk.

Sweet curdling or « bitty cream »

The most serious bacteriological problem in bulk milk pasteurized in Britain to-day is « bitty cream » which occurs in efficiently pasteurized milk in warm weather (Davis 1940, Barkworth 1958). It is caused by the lecithinase and rennin activities of *B. cereus* and *B. mycoides* (Stone and Rowlands 1952) and although there is no souring or taint, the curdy cream makes the milk unsaleable. Being spore-formers, these organisms are not destroyed by pasteurization, and once the raw milk has been infected at the farm or in the dairy nothing can be done about it except to keep the milk cold up to a few hours before consumption. The fault is highly characteristic of pasteurized milk, especially that sold by large firms, and is practically never found in raw milk because this either sours if held at over 15° C or ultimately develops psychrophil taint if refrigerated. The spore-formers concerned do not grow appreciably below 15° C.

The key points in this problem are the numbers of spores present, because pasteurization kills the vegetative cells, and the temperature of holding the milk. The numbers of mesophilic aerobic spores in tanker raw milks vary from about 10 in July to about 150 per 100 ml. in January (Franklin *et al.* 1956). Fortunately only a very small proportion of these are *B. cereus* and *B. mycoides*. The seriousness of the fault, which may assume epidemic proportions at times, emphasizes the need for the hygiene on the farm to be directed towards this peculiar type of contamination (dust, soil, hay, cereals, etc.). As with all bacterial faults it is probable that infection from badly cleaned equipment is the most serious. Milk residues from equipment when the fault is established may easily contain millions of cells and thousands of spores of the causative organisms per ml. Thus the fault tends to be self-perpetuating, especially as the spores are difficult to kill. Ordinary cleaning and sterilizing procedures for farm and dairy equipment (Davis 1956, Soc. Dairy Tech. 1959) and for bottles (Resuggan 1958) can comfortably cope with non-spore-forming organisms, but spores are a problem if present in numbers and cleaning methods are not extremely efficient. Thus a 1 % NaOH solution at 60° C requires 224 minutes to achieve a 99.9 % kill (Franklin and Clegg 1956). Ordinary methods of steri-

lisation of equipment do not kill spores to any extent ; from this angle the *cleaning* of all equipment including bottles must receive special attention.

Acceptability for pasteurization

In practice the criterion for bulk milk to-day is simply — can it be pasteurized to give a good product ? Unfortunately there is no simple test for the pasteurizability of raw milk ; even extended bacteriological tests on the raw milk are of little use (Ashton 1950). Broadly speaking one may say that a bulk raw milk which

1) has no appreciable unpleasant odour or taste
2) passes the 68 % alcohol and clot-on-boiling tests
3) does not give a resazurin disc reading below 3 in 10 minutes at 37° C.
4) does not have a titratable acidity greater than 0,17 % « lactic acid » and
5) does not have a colony count greater than 10,000000 at 32° C.

can be pasteurized to give a satisfactory product. The first four tests can be made in 10 minutes. (For the technique of these tests see Davis 1959).

Recent investigations of the bacteriological quality of bulk milk as delivered to London pasteurizing centres

During the last few months we have studied the bacteriological quality of bulk milk arriving in London by a number of tests. The data have been collated separately for ordinary (i.e. non T.T.), Tuberculin-tested and Channel Islands milks and are given in Tables 7, 8 and 9. The tankers came from a wide area so that the results can be regarded as typical for England at the present time. The media and techniques were as described by Davis (1959). The results given are individually the best and the worst obtained for a batch of tanker milks on one day. These results are often but not necessarily all for one milk.

Discussion of results

It will be seen that all the milks passed the standards suggested on p. 538. The values for titratable acidity, pH and true lactic acid (not given in this paper) were also all quite satisfactory. The total

counts on both media were very similar and acid formers (lactose fermenters) constituted a large proportion of the total count. Generally speaking the psychrophil count (7 days at 5° C) was appreciably lower than the total count. The spore count (plating after heating the milk at 80° C for 20 minutes) was high in ordinary and T.T. bulk milks in March and April, but not in Channel Islands bulk milk. The total counts and acid formers are higher in the last, especially in March and April, but the spore counts are then lower than those of ordinary and T.T. milks. Only a small proportion of than sporeformers produce lecithinase.

It was formerly thought that high fat milk « would not keep », i.e. there was some intrinsic property which led to more rapid souring than milk of normal fat content. It appears to be true that Channel Islands milk is still of inferior keeping quality, but our investigations could yield no evidence that fat *per se* influenced keeping quality unfavourably (Davis 1941). On the whole this milk keeps less well because it is produced in a warm region (Devon and Cornwall), and the long tradition of use for cream and butter militates against the best hygienic practice in production for the liquid market.

It will be seen that neither the 10 nor the 30 minute resazurin test is sensitive enough to detect milks on the border line, i.e. with total counts approaching 10.000.000. However, the 60 minutes resazurin does so, and appreciably more quickly the than methylene blue test which requires 2 to 3 hours.

The « flashing » of bulk milk at the country depot can easily be detected by the fact that it then gives good resazurin and methylene blue tests but a high titratable acidity and a low pH.

With improved methods of production the standards given (p. 538) might well be raised. The commonest cause of failure is the inability of both farms and depots to cool the milk adequately in hot weather. The obligatory refrigeration (cooling to 4° C) of milk on all farms is a highly controversial question, but there is much to be said for it. The main criticism of such a compulsory measure is that refrigeration would in practice mask poor methods of production.

The ultimate objective

A reasonable objective for liquid milk is a product that will keep for some days at prevailing atmospheric temperatures. Such a product would not only free space in the domestic refrigerator for other perishable foods, but would permit the institution of a retail system involving household deliveries only two or three times a week. Such a scheme

would reduce delivery costs and assist towards the organisation of a 5 day week for dairy operatives.

TABLE 10

Treatment	Types destroyed	Keeping quality
Pasteurization (15 sec. at 71° C.)	All pathogens and non-thermoduric organisms.	24 hours
Super-pasteurization (30 sec. at 100° C)	Thermoduric bacteria	2-3 days
Sterilization (20 min. at 110° C.)	Spores (nearly all)	1-3 months
Quick sterilization (2 sec. at 140° C.)	Spores (all)	Indefinite

The four stages in the evolution of a milk of indefinite keeping quality are illustrated in Table 10. As sterilized milk is not popular, and may even be discouraged in some countries, it is suggested that a new type of milk should be instituted and officially recognised. This would be milk quick-sterilized by heating for c. 2 sec. at 140° C and immediately filled into sterile bottles as aseptically as possible. While perfectly aseptic filling is very difficult to attain, a near-aseptic condition is reasonably easy and gives a milk lasting for some days at atmospheric temperatures. Such a milk could be called *long keeping pasteurized milk* (LKP milk) and should be required to keep for 2 days at 25° C or some similar temperature-time conditions. It should pass any of the tests for pasteurized milk and be devoid of any appreciable cooked milk flavour.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are indebted to Miss M. McGaskill for technical assistance in this work and to Mr. S. B. Thomas and his colleagues for permission to quote data from their recent papers. They are grateful to the Chairman and Directors of the Express Dairy Company Limited, London for permission to publish experimental findings obtained in the Company's laboratories.

TABLE 7

Bacteriological tests on bulk ordinary milk

Date	*Temp.* C°	*Meth. blue* hr.	*Resazurin* Disc. no. 10'	30'	60'	*Total count* Milk agar (000	Litmus lactose agar (000)	*Acid formers* (000)	*Spores* 37°	22°	Lecithinase positive	*Psychrophilic count* (000)	*Coli* 10-4 (+out of 3 tubes)	10^{-5}
17.3	4	5	6	6	5		208		180	<10	20	20	3	
	5	2.5	6	5.5	3.5		>1600		500	340	30	>160	3	
25.3	4.5	3.5	6	5.5	5		500	52	60	<10	<10	20		
	8	3.5	6	5	4.5		1680	1580	350	330	60	2000	3	
8.4	4.5	5.5	6	5	4.5	160	300	240		<10	<10	19	1	
	5	2.5	6	5	3	1400	1800	1700		>1600	<10	480	3	
29.4	4	6	6	5.5	5	110	120	80		20	<10	84	1	
	5	4	6	5	4.5	800	900	860		150	<10	160	3	
6.5	4	6.5	6	5	4.5		220	200	<10	<10	<10	80	3	3
	7	2	6	4	3		8000	1580	40	50	10	800	3	3
13.5	4.5	3.5	6	5	4.5	350	400	360	<10	<10	<0	93	0	0
	5	2.5	6	4.5	4	2800	2000	1000	30	20	10	736	3	3
20.5	3.5	5.5	5	5	4.5	350	460	400	<10	<10	<10	248	2	0
	6	4	6	5	4	1400	1680	1580	20	10	10	800	3	3
27.5	5	5	6	6	5	1000	1200	1100	<10	10	<10	360	3	1
	5	2.5	6	4.5	3.5	2000	2000	1940	30	20	<10	880	3	3
10.6	4.6	6.5	6	5.5	5	700	300	<10	<10	<10	<10	1120	1	0
	7	4	6	5.5	4.5	4000	3600	3300	40	40	20	600	3	3
13.6	4.5	4.5	6	5.5	5	1700	1400	1000	10	<10	<10	240	3	0
	7	6	6	4.5	3	9500	9600	7600	60	30	20	>1600	3	3

The higher figure in each pair of results represents the best value obtained, and the lower figure the worst

TABLE 8

Bacteriological tests on bulk Tuberculin-tested (T.T.) milk

Date	*Temp.* °C	*Meth. blue* hr.	*Resazurin* Disc. n°. 10'	30'	60'	*Total count* Milk agar (000)	Litmus lactose agar (000)	*Acid formers* (000)	*Spores* 37°	22°	Lecithinase positive	*Psychrophilic count* (000)	*Coli* 10^{-4} (+ out of 3 tubes)	10^{-5}
17.3	3.5	5	6	6	5		168	159	50	80	<10	32	3	
	4	4	5	6	4.5		280	267	560	280	20	88	3	
25.3	4	5	6	5.5	5		90	70	260	150	40	42	3	
	4.5	3.5	6	5.5	4.5		600	500	440	520	70	162	3	
8.4	4	5.5	6	5	4.5	80	50	30	30	20	<10	40	0	
	6	3.5	6	4.5	4	1220	1360	1100	100	80	30	320	3	
29.4	3.5	7	6	5.5	5	60	30	30	<10	<10	<10	22	1	
	4.5	4	6	5	4.5	460	450	420	40	30	20	240	3	
6.5	4	6.5	6	5	4.5		140	90	<10	<10	<10	50	3	0
	5.5	3.5	6	4.5	3.5		>1600	>1600	90	30	20	360	3	3
13.5	4	4.5	6	5	4.5	320	300	200	<10	<10	<10	80	1	0
	5	2.5	6	4	4	3000	2400	2330	100	100	30	200	3	3
20.5	3.5	6	6	5	4.5	43	140	110	<10	10	<10	62	0	0
	5	4	6	5	4	1000	1380	1340	50	60	30	640	3	2
27.5	4.5	5	6	6	5	720	800	860	<10	<10	<10	280	3	1
	5	2	6	4	2.5	2800	2400	2200	30	10	10	800	3	2
10.6	5	6.5	6	5.5	5	300	300	300	<10	<10	<10	120	0	0
	6	2.5	6	5	4	4000	3500	2600	40	40	20	>1600	3	3

TABLE 9

Bacteriological tests on bulk Channel Islands (high fat) milk

Date	*Temp.* C°	*Meth. blue* hr.	*Resazurin* Disc. n°. 10'	30'	60'	*Total count* Milk agar (000)	Litmus lactose agar (000)	*Acid formers* (000)	*Spores* 37°	22°	Lecith-inase positive	*Psychro-philic count* (000)	*Coli* 10^{-4} (+ 'out of 3 tubes)	10^{-5}
8.4	4.5	4.5	6	5	4.5	600	850	690	30	<10	<10	320	3	
	6	2.5	6	4.5	3	6400	4800	4670	60	70	50	>1600	3	
29.4	4.5	6	6	5.5	5	300	220	160	10	10	<10	70	3	
	6	3.5	6	5	4	2000	1680	1580	70	60	<10	880	3	
6.5	5.5	4	6	5	4.5		1900	1900	10	10	<10	400	3	3
	6	2	6	4.5	4		2000	1940	30	10	<10	>1600	3	3
13.5	6.5	3.5	6	5	4.5	1600	800	660	<10	<10	<10	186	3	2
	6.5	2.5	6	5	4	2000	2080	1808	<10	<10	<10	352	3	3
20.5	5	4	6	5	4	4000	2000	1900	10	<10	<10	>1600	3	0
	5.5	4	6	5	2.5	4800	4000	4000	140	100	40	>1600	3	3
27.5	6	4.5	6	5.5	4.5	600	500	400	<10	<10	<10	420	3	1
	6	4.5	6	5.5	4	2000	2000	1900	50	50	20	>1600	3	3
10.6	4.5	5	6	5	4.5	1000	800	800	10	<10	<10	400	3	0
13.6	5.5	4.5	6	5.5	5	2500	2200	2000	<10	10	<10	400	3	1
	6.5	2	6	5.5	4.5	6800	5200	4600	10	30	10	>1600	3	3
15.6	5.5	6.4	6	5.5	5	800	800	400	<10	<10	<10	208	3	0
	6	5	6	5.5	5	1400	1400	1000	20	10	<10	320	3	1

REFERENCES

Anon (1953). *J. Milk Food Tech.*, **16**, 189.
Ashton T. R. (1950). *J. Dairy Res.*, **17**, 261.
Id., (1959). Inpublished data.
Barkworth H. (1958). *J. Soc. Dairy Tech.*, **11**, 181.
Barkworth H. *et al.* (1942). *Proc. Soc. Agric. Bact.*, p. 25.
Id., (1943). *Dairy Ind.*, **8**, 215.
Bowyer P. *et al.* (1945). *Proc. Soc. Appl. Bact.*, p. 57.
Chalmers C. H. (1955). *Dept. Hlth. Scot. Health Bull.*, **14**, 1.
Clegg L. F. L. *et al.* (1949). *Proc. Soc. Appl. Bact.*, p. 43.
Davis J. G. (1940). *Milk Tr. Gaz.*, **10**, 4.
Id. (1941). Unpublished observations.
Id. (1951). *Proc. Soc. Appl. Bact.*, **14**, 216.
Id. (1955). « A Dictionary of Dairying ». London.
Id. (1956). « Laboratory Control of Dairy Plant ». London.
Id. (1959). « Milk Testing ». London.
Davis J. G. & Wilby F. W. (1943). Unpublished observations.
Davis J. G. *et al.* (1945 a). *Proc. Soc. Appl. Bact.*, p. 69.
Id. (1945b). *ibid.*, p. 62.
Franklin J. G. *et al.* (1956). *J. Appl. Bact.*, **19**, 46
Henderson H. B. (1959). *Proc. Int. Dairy Congr.*, **4**, 2005.
Herrmann L. F.& Agnew E. B. (1959). *Proc. Int. Dairy Congr.*, **4**, 2010.
Inglis J. G. (1957). *J. Soc. Dairy Tech.*, **10**, 167.
McClemont J. & Davis J. G. (1939). *J. Dairy Res.*, **10**, 81.
Milk Marketing Board, England (1957). « Spec. Refrig. Farm Tanks », August.
Morris C. S. (1943). *Proc. Soc. Agric. Bact.*, p. 29.
Neave F. K. & Hoy W. A. (1943). *Proc. Soc. Agric. Bact.*, p. 36.
Procter F. (1943). *Dairy Ind.*, **8**, 211.
Purvis G. (1959). *Proc. Int. Dairy Congr.*, **4**, 1998.
Resuggan J. C. L. (1958). « The Cleaning and Sterilisation of Bottles ». London.
Smith W. G. & Hall H. S. (1959). *Proc. Int. Dairy Congr.*, **4**, 1992.
Soc. Dairy Tech. (1959). « In-place cleaning of dairy equipment ». London.
Stone M. J. & Rowlands A (1952). *J. Dairy Res.*, **19**, 51.
Thom V. M. (1959). *J. Soc. Dairy Tech.*, **11**, 195.
Thomas S. B. *et al.* (1948). *Proc. Soc. Appl. Bact.*, p. 7.
Id. (1960a). *J. Appl. Bact.* (In press.).
Id. (1960b). *ibid.* (In press).

Summary

The changes and developments in the techniques involved in the collection and handling of bulked milk supplies, and the effect of these changes on the bacteriological quality of the milk, are discussed.

The following aspects of quality in milk to be used for the liquid market have been studied.

a) Keeping quality.
b) Palatability.
c) Ease of pasteurisation.
d) Numbers and types of spoilage organisms
e) Public health factors.

These technical changes and developments are briefly outlined, as under :

1. *At the farm.*

   1) The change from hand to machine milking.
   2) Introduction of new milking techniques, such as « in-can » milking.
   3) Introduction of more suitable materials e.g. stainless steel for milking equipment and aluminium for cans.
   4) Introduction of new techniques for cleaning and sterilising.
   5) Improvements in facilities for cooling.
   6) Increase in quality control schemes such as elimination of tubercle bacilli from dairy cows.

2. *At the dairy.*

   1) Improvements in farm collection and milk reception arrangements, and reduction of « waiting » time in cans.
   2) Improvements in facilities for refrigeration.
   3) Increased use of refrigerated tankers for interdairy transfers, and consequent reductions in « small bulk » loads transferred in cans.
   4) Introduction of bulk-handling schemes, in which milk is collected from the farms and delivered to the processing dairy in tankers.

La récolte et les manipulations du lait en vrac

Résumé

Les auteurs examinent l'évolution et le développement des techniques de la récolte, des manipulations du lait en vrac ainsi que les effets de cette évolution sur la qualité bactériologique du lait.

Ils étudient les aspects suivants de la qualité du lait destiné à la consommation.

a) Pouvoir de conservation.
b) Qualités organoleptiques.
c) Facilité de pasteurisation.
d) Numération et types d'organismes microbiens qui altèrent le lait.
e) Facteurs relatifs à la santé publique.

Les changements et les développements techniques peuvent être esquissés comme suit :

1. *A la ferme.*

   1) Passage de la traite à la main à la traite mécanique.
   2) Introduction de nouvelles techniques telle la traite en bidon.
   3) Emploi d'un matériel plus approprié par exemple l'équipement de traite en acier inoxydable et les bidons en aluminium.
   4) Utilisation de nouvelles techniques de nettoyage et de stérilisation.
   5) Progrès de la technique de refroidissement.
   6) Amélioration des dispositifs de contrôle tel que celui pour l'éradication de la tuberculose bovine.

2. *A la laiterie.*

1) Progrès de la collecte du lait à la ferme et des dispositifs de réception du lait ; réduction du temps d'attente en bidons.
2) Amélioration de la réfrigération.
3) Emploi accru des camions citernes réfrigérés pour les transports entre laiteries et réductions conséquentes des charges réduites transportées.
4) Introduction des systèmes de manipulation du lait en vrac, dans lesquels le lait est collecté à la ferme et amené à la laiterie en camions-citerne.

« Bulk collection » und Behandlung der Milch

ZUSAMMENFASSUNG

Die Berichterstatter untersuchen die Änderungen und Entwicklungen der Techniken für das Sammeln und Behandlen loser Milchlieferungen sowie den Widerschlag dieser Änderungen auf die Qualität der Milch.

Sie prüften die folgenden Punkte mit Rücksicht auf die Qualität der Milch :

a) Aufbewahrungsfähigkeit.
b) Geschmacksqualität.
c) Bequemickheit beim Pasteurisieren.
d) Zahl und Typen der Bakterien welche die Milch ändern.
e) Faktore bezüglich der Volksgesundheit.

Die Änderungen und Entwicklungen können wie fülgt zusammengefasst werden :

1. *Auf dem Hof.*

1) Hinüberwechseln vom Handmelken nach mechanisch-Melken.
2) Einführen neuer Techniken wie das direkt in die Kanne melken.
3) Verwenden besseres Material wie rostfrei Stahl für das Milchmaterial und Aluminium für die Kannen.
4) Einführen neuer Techniken für das Reinigen und das Sterilisieren des Materiales.
5) Fortschritte im Kühlungstechnik.
6) Verbesserungen im System der Qualitätkontrolle wie das Ausrotten der Rindertuberkulose.

2. *In der Molkerei.*

1) Fortschritte der Milchsammlung auf den Baudernhöfen und vom Milchempfang in den Molkereien ; kürzer Wartezeit der Milch in Kannen.
2) Fortschritte im Abkühlen der Milch.
3) Grösser Verwendung von Kühltankwagen für den Transport zwischen Molkereien aus der sich weniger Transporte in Kannen ergibt.
4) Einführen des Milchsammelsystems von den Höfen zur Molkerei mit Tankwagen.

Erfahrung über den Einsatz des Milchsammelexpress

von Dr. Fritz Lehmann
Direktor der Milchwirtschaftlichen Arbeitsgemeinschaft, Hannover
(Allemagne occidentale)

Seit 1957 ist in der Bundesrepublik infolge zunehmenden Arbeitskräftemangels an Fach- und Melkpersonal, sowie aus Gründen der Qualitätsverbesserung die fahrbare Gemeinschaftsmelkanlage entwickelt worden.

Von primitiven Anfängen aus, bei denen eine Melkmaschine auf ein Chassis montiert war zum Anschluss an das elektrische Stromnetz des landwirtschaftlichen Betriebes bis zur motorbetriebenen Melkmaschine auf einem Wagen mit Annahmebassin, Milchpumpe, Kühler und Sammeltanks ging die Entwicklung.

In Niedersachsen wurde aus Geldmitteln der Milchwirtschaft eine fahrbare Gemeinschaftsmelkanlage angeschafft und der Lehr- und Versuchsanstalt der Landwirtschaftskammer Hannover in Echem mit der Zweckbestimmung zur Verfügung gestellt, mittels dieser Einrichtung Melktruppführer auszubilden ; denn die Anforderungen an die Eigenschaften des Melktruppführers sind sehr gross. Beste Viehpfleger, hervorragende Melker und beste Techniker zum Fahren und Bedienen hochempfindlicher Maschinen und Geräte sind erforderlich. Es haben sich in den letzten Jahren zahlreiche junge Leute (u.a. 2. und 3. Bauernsöhne) als Melktruppführer ausbilden lassen.

Bei den hohen Entlohnungschancen und verkürzten Arbeitszeiten in der Industrie ist es jedoch heute kaum noch möglich angesichts des hierfür aufzuwendenden Lohnes geeignete Arbeitskräfte zu erlangen.

Der Einsatz der Gemeinschaftsmelkanlangen hat sich jedoch nur in mittleren Betrieben mit 12-18 Kühen bewährt.

Die Bauersfrau oder familieneigene Arbeitskräfte wollen und können in solchen Betrieben die Melkarbeit allein nicht mehr durchführen. Die Einstellung eines voll ausgelasteten Melkermeisters ist bei dieser Kuhzahl jedoch nicht rentabel, da die Kosten der Gemeinschaftsmelkanlage in Deutschland bei 20-24 DM je gemolkene Kuh und Monat liegen und für den kleinen bzw. grossen Betrieb zu hoch sind.

Damit aber sind für den Einsatz der Gemeinschaftsmelkanlagen

Grenzen gezogen, die eine allgemeine Anwendung der Melkwagen für geschlossene Einzugsgebiete nicht zulassen.

Die Schwierigkeiten der Beschaffung von Melkkräften und die Bewältigung der zusätzlichen Arbeiten der Aufbewahrung, der Kühlung der Milch, der doppelten Kannenreinigung und Desinfektion werden laufend grösser.

Da in der Landwirtschaft auch diese zusätzlichen Arbeitsleistungen der Milchbehandlung und Aufbewahrung auf dem bäuerlichen Betrieb eingespart werden müssen, wurde aus der Gemeinschaftsmelkanlage, die nunmehr für alle landwirtschaftlichen Betriebsgrössen verwendungsfähige « fliegende Annahme » entwickelt.

Die zunehmende Verkehrsdichte, die das Anfahren von Milchkannen durch Pferdefuhrwerke oder Traktoren in die städtischen und grossstädtischen Molkereibetriebe nicht mehr möglich macht und die Notwendigkeit, Arbeitsvorgänge in der Molkereiwirtschaft zu rationalisieren, führten ihrerseits dazu, *die fahrbare oder fliegende Annahme bzw. den Milchsammelexpress* (im folgenden MSW = Milchsammelwagen genannt) einzusetzen (Abb. 1). Es handelt sich dabei praktisch um die Verlegung eines Arbeitsvorganges aus der Molkerei in das Dorf bzw. an die Sammelbank der dortigen Milchlieferanten.

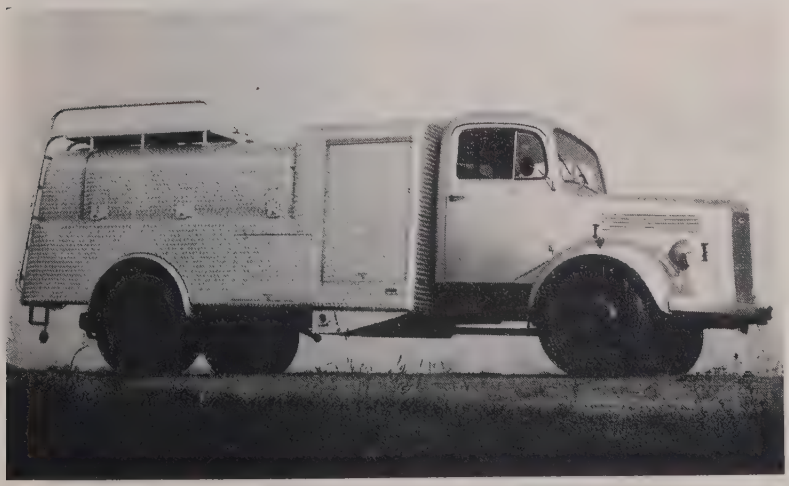


Abb. 1. — Der Milchsammelwagen.

In Niedersachsen und Nordrhein-Westfalen sind Fahrzeuge verschiedener Grössenordnung im Einsatz. (2-6 To.).

Vorwiegend werden nur Motorwagen verwendet, neuerdings gibt es

aber auch Anhängerwagen mit denselben Gerätschaften wie der Motorwagen sie hat, deren Motoren für die Pumpen aus Batterien gespeist werden (Abb. 2).

Abb. 2. — Der Anhängerwagen.

Die Grösse des Fahrzeuges und das Fassungsvermögen der aufgebauten Tanks richtet sich ausschliesslich nach dem Verwendungszweck.

In Gebieten mit grosser Milchdichte, die sich auf eine Mehrzahl kleinerer Gemeinden bzw. Einzelbetriebe verteilt, guten Strassen und kurzen Entfernungen zur Molkerei, kann sich das kleinere Fahrzeug im mehrmaligen Einsatz je Melkzeit ebenso, vielleicht auch besser bewähren als ein grosser Wagen oder Zug, der nur einmal je Melkzeit fahren kann. Fast ausschliesslich werden Dieselfahrzeuge verwendet : Firma Daimler Benz, Borgward, M.A.N., Hanomag.

Es handelt sich vornehmlich um Serienfahrzeuge mit normalem Hinterradantrieb, bei besonders schwierigem Gelände mit Allradantrieb oder Differenzialsperre.

Die Aufbauten der Fahrzeuge bestehen aus : (Abb. 3)

1. Einem Eingussbehälter aus nichtrostendem Stahl bezw. Aluminium mit einem Reinheitsgrad von 99,5 % mit Doppelsieb für Filteranlage und einer selbstansaugenden Milch-Kreiselpumpe mit auto-

matisch betätigter Magnetkupplung. Die neuen Fahrzeuge sind jedoch alle so eingerichtet, dass neben dem Auskippen der Kannen in den Eingussbehälter auch ein Absaugen mittels Saugrüssel und einer zweiten entsprechend selbstansaugenden Pumpe (6-10.000 Ltr pro Stunde) aus Transportkannen des Bauern oder Hofbehältern möglich ist.

2. Einem automatisch betätigten Magnet-Absperrventil bzw. einem Federdruckventil.

3. Einem Volumenzähler, Ringkolben-Milchzähler aus Chrom-Nickelstahl mit einem löschbaren und fortlaufenden Zählwerk, von der Physikalisch-Technischen Bundesanstalt geprüft und als eichfähig erklärt. Fehlmessungen durch Luftsaugen müssen ausgeschaltet sein.

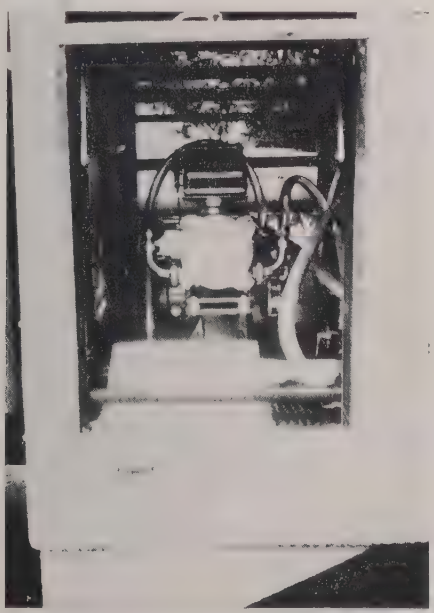


Abb. 3. — Das Annahmebassin, die Milchpumpe, die Messuhr und das Probenahmegerät.

Als Umrechnungsfaktor hat sich in der Praxis erwiesen: 1 Ltr Milch = 1,01 kg unter Zugrundelegung einer mittleren Temperatur von + 20 — + 26° C und zweimal täglicher Abholung.

Bei einmalig täglicher Abholung gekühlter Milch von + 12 — + 18° C ist das Umrechnungsverhältnis: 1 Ltr Milch zu 1,03 kg.

4. Einem kontinuierlich arbeitenden Probenehmer mit Rückschlagventil bzw. einem in Chargen arbeitenden Probenehmer.

Die Probeflaschen werden hierbei dem Entnahmeventil automatisch mit der Betätigung des Löschzuges der Uhr zugeführt. Die Grösse der Probeflaschen ist unterschiedlich, je nach der benötigten Milchmenge für die Reduktase, die Reinheits- und Fettgehaltsbestimmungen. In Niedersachsen werden zur Zeit je *300 ccm* Milch entnommen, davon

250 ccm für die Reinheitsprüfung,
11 ccm für Fettgehaltsbestimmung und
10 ccm für Reduktionsprobe.

Versuche, mit geringeren Milchmengen auszukommen, z. B. mit 120 *ccm* Milchentnahme davon :

10 ccm Reduktionsprobe
11 ccm Fettgehaltsbestimmung
80 ccm Reinheitsprobe

mit dem Herrmannschen Schmutzprüfer sind eingeleitet, aber im Ergebnis noch nicht abgeschlossen. Es bestehen bei der kleineren Flaschengrösse Bedenken wegen der relativ sehr grossen Oberfläche des Flascheninhalts in der warmen Jahreszeit.

Die Apparatur zur automatischen Probeentnahme wird in verschiedenen Konstruktionen hergestellt und geliefert. In jedem Fall ist sichergestellt,

1) dass die angelieferte Milch gut durchgemischt wird.
2) dass eine aliquote Menge entnommen wird, d.h. Probemenge im Verhältnis zur Durchlaufmenge.
3) dass die verschleppte Milchmenge im Stumpf der Annahme bzw. in Rohrleitung und Messuhr möglichst gering bleibt.
   Erfahrung : Bei den bisherigen Untersuchungen verschleppte Milchmenge je Lieferant : ca. 120 ccm.
4) dass die Flaschen für die Probemenge in einem abschliessbaren Raum eingesetzt werden und nicht dem Fahrpersonal zugängig sind
5) dass mit dem Schaltvorgang des Löschens der Messuhr auch die Probeflasche für die Entnahme der Milchmenge des nächstfolgenden Lieferanten zum Probenahmegerät vorrückt.
6) dass möglichst viel Flaschen eingesetzt werden können, um möglichst bei vielen Lieferanten im gleichen Arbeitsvorgang die Probemenge entnehmen zu können (96-120 Flaschen je Tour).
7) dass der Flaschenhals möglichst verengt ist, um ein Verspritzen der Milchprobemenge zu vermeiden.

Die heute im Einsatz befindlichen Probeentnahmegeräte sind z.B. durch den Milchkontrollverband Westfalen/Lippe geprüft und für brauchbar befunden worden. Kann damit zwar die Entnahme der Milchproben, die sonst bei der Rampenkontrolle erfolgt, mittels der fliegenden Annahme vorgenommen werden, so bleibt problematisch die Frage der Prüfung der Anlieferungsmilch auf Säuregrad mittels einer Schnellmethode (Microprüflöffel, Lakmusstreifen, Rote-Lauge-Probe). Es wird für erforderlich gehalten, das Fahrpersonal so auszubilden, dass es in der Lage ist, mittels Schnellprüfmethode die Anlieferungsmilch des Lieferanten während der warmen Jahreszeit zu kontrollieren. Weniger Bedeutung hat eine solche Massnahme bei der zweimalig täglichen Abholung, unentbehrlich ist sie aber bei der täglich einmaligen Abholung.

5. Tanks für Anlieferungs- und Rückgabemilch fest auf dem Wagen montiert oder abnehmbar und auswechselbar.

Im Verhältnis zur Grösse des Vollmilchsammeltanks muss das Fassungsvermögen des Magermilchtanks sein, sofern nicht ausschliesslich Magermilch in Form von Pulver zurückgegeben wird (s. Molkereigenossenschaft Minden).

Das Rückgabeverhältnis Magermilch zur Anlieferungsmilch ist unterschiedlich und schwankt zwischen 30 und 75 %. Ferner ist bedeutungsvoll, ob Magermilch dicksauer oder süss zurückgeliefert wird.

Es hat sich neuerdings als günstig erwiesen, wenn das Abfüllen der Magermilch nicht durch eigenes Gefälle, sondern mittels Vacuum erfolgt. Als Material für die Tanks wird Nirostastahl oder Aluminium verwendet. Isoliertes Material ist nicht erforderlich (Abb. 4).

6. Kühleinrichtung.

Bei der fliegenden Annahme (MSW), die täglich einmal oder täglich zweimal eingesetzt wird, sind Kühlenlagen auf dem Fahrzeug nicht eingebaut.

Die Frage der Kühlung der Milch ergibt zur Zeit drei verschiedene Methoden :

a) zweimalig tägliche Abholung, kurzer Transportweg und kurze Transportdauer zur Molkerei, maximal 2 ½-3 Stunden, dort sofortige Tiefkühlung im Vorstapelbehälter auf + 4 — + 6°C.

Dieses Verfahren hat zur Voraussetzung sauberste Arbeitsweise, Reinigung und Desinfektion des Melkgeschirrs, der Melkmaschinen und Transportgefässe auf dem Bauernhof und Sicherstellung, dass jeweils das Gemelk im Anschluss an die Melkzeit zur Verladung gelangt, nicht aber Verschleppung des Gemelks auf andere Abholzeiten.

b) Bei einmaliger Abholung der Milch am Tage ist Voraussetzung die Tiefkühlung der Milch auf dem Bauernhof, Abend- und Morgenmilch gemeinsam.

Abb. 4. — Die Zurücklieferung der Magermilch.

c) Täglich einmalige Abholung mit Kühlung an Bord des Fahrzeuges.

Ein Fahrzeug läuft in Frankfurt mit einer maschinellen Kühlanlage auf dem Wagen. Es handelt sich hierbei um eine Sonderkonstruktion, bei der jedoch das Verhältnis Nutzlast zur Last der Maschine, Geräte und Kühlanlage sehr ungünstig ist. (6 to Gesamtgewicht, davon 2 to für Aufbauten und Kühlanlage).

Die Kosten dieses Fahrzeuges betragen 92.000,—DM. Mit diesem Wagen wird ein 50 km von Frankfurt im Taunus gelegenes, sehr schwierig zu erfassendes Einzugsgebiet befahren, bei dem eine zweimalig tägliche Anfuhr nicht durchführbar wäre.

Die Überprüfung der Qualität der mit MSW angelieferten Milch ist in zahlreichen Versuchen erfolgt, die durch die Milchwirtschaftliche Lehr- und Untersuchungsanstalt des Landes, die Milchvichkontrollverbände und die Molkereien selbst durchgeführt wurden.

Aus diesen Erfahrungsberichten darf ich einige Beispiele anführen : *Molkerei I* (Anlieferung Juli 1959 : 1.101.702 kg)

Gesamtanlieferung
Güteklasse I = 60 %
» II = 38,5 %
» III = 1,5 %

davon :

	Kannenmilch :	*Sammelwagen* :
Güteklasse I	53,0 %	70,5 %
» II	44,0 %	29,0 %
» III	3,0 %	0,5 %

Bei einer weiteren Molkerei, die ihre Anlieferung im Juli 1959 auf Tankwagen umstellte, ergaben sich folgende Untersuchungsergebnisse :

1. *Untersuchungsjahr* (1958).

i. %

	Mai	Juni	Juli	Aug.	Sept.	ø Juli-Sept.
Güteklasse I	34,7	30,6	26,4	42,0	39,9	35,6
» II	53,0	39,8	36,8	21,4	36,8	31,7
» III	12,3	29,6	36,8	36,6	23,3	32,7

2. *Untersuchungsjahr* (1959)

i. %

Güteklasse I	42,9	46,9	79,2×	87,6	80,8	82,5
» II	42,7	35,2	20,1	12,1	18,6	17,0
» III	14,4	18,0	0,6	0,3	0,7	0,5

× = Tankwagen eingesetzt

Die Ergebnisse der Qualitätsuntersuchungen der mittels Tankwagen angelieferten Milch sind weitgehend ausser den bereits geschilderten Momenten auch von der Länge der Fahrzeit und von den Tageszeiten abhängig, zu denen mit der Anlieferung begonnen wird.

Bei einer dritten Molkerei, die ihre Anlieferung auf Tankwagen umstellte, wurden noch im März 1959 ø 2,4 Mio Keime und Koli-positiv ermittelt. Im Oktober desselben Jahres waren die durchschnittlichen Keimzahlen auf 470.000-1,8 Mio und Koli nur noch in ganz wenigen Fällen feststellbar.

Bei einer vierten Molkerei im Grünlandgebiet an der Unterelbe wurden ein Jahr nach Umstellung in der Tankwagenmilch 150-800.000 Keime im Oktober 1959, Koli nur noch geringfügig ermittelt.

Bei einem 5. Betrieb, dessen Anlieferung seit 3 Jahren bereits durch Tankwagen erfolgt, wurden monatlich im Durchschnitt 50-300.000 Keime und Koli-negativ festgestellt.

Besonders sorgfältige Feststellungen liegen mir aus dem Gebiet Frankfurt vor. Dort sind ausser der Reduktionsprüfung auch sorgfältige Keimzahlfeststellungen der Anlieferungsmilch gemacht worden, die für die Monate Febr. April 1960, 0,04 — 0,38 Mio Keime, Reduktionsprobe

durchweg 1 bei der Morgenmilch und 0,02-0,7 Mio Keime, Reduktionsprobe durchweg 1 in der Abendmilch ergaben.

Die Keimzahlen bei diesem Molkereibetrieb während der Sommermonate Juni-Aug. 1959 lagen bei der Kannenanlieferung 0,12-0,9 Mio Keime, Reduktionsprobe 1-4, zum Teil Koli-positiv, bei der MSW-Milch 0,02-0,4 Mio Keime, Reduktionsprobe 1-(1-2).

Hieraus ergibt sich unzweideutig, dass bei fortlaufender sorgfältiger Beratung und Überwachung der Milcherzeuger über die mit MSW angelieferten Milchmengen eine echte Qualitätsverbesserung erreicht werden kann. Qualitätsverbesserungen wurden vorzugsweise in solchen Gebieten beobachtet, in denen eine Vielzahl kleinerer bäuerlicher Betriebe ohne entsprechende Kühleinrichtung die Milch zur Ablieferung bringt. Bei grösseren landwirtschaftlichen Betrieben, denen die gleiche Sorgfalt, Beratung und Überwachung zuteil wird, sind wesentliche Qualitätsverbesserungen nicht zu erwarten.

Für Molkereien, die vor Um- oder Neubauten stehen, die eine Kannenwaschmaschine anzuschaffen beabsichtigen, die ein verkehrsmässig ungünstiges Einzugsgebiet besitzen oder ihr Einzugsgebiet erweitern wollen, ist die Umstellung auf MSW zu überlegen.

Für die Einführung dieser fahrbaren Annahme ist die Schaffung entsprechender Vorstapelung mit ausreichender und schnellwirksamer Tiefkühlung Voraussetzung.

Die Milchanlieferung mittels Transportkannen und Tankfahrzeugen nebeneinander ist auf die Dauer unwirtschaftlich. Betriebswirtschaftlich ist für die Molkerei die beste Ausnutzung gegeben, wenn die Sammelwagen auch für andere Transportzwecke (Versandmilchtransport, Milchtransport zu Käsereien oder Dauermilchwerken) eingesetzt werden können.

In Niedersachsen hat es sich erwiesen, dass Molkereifusionen durch den Einsatz der MSW möglich wurden.

Die MSW haben einen grösseren Aktionsradius als die bisherigen Pferdefuhrwerke und Traktoren.

Betriebswirtschaftlich ergeben sich bisher bei den Molkereien folgende Erfahrungen :

Die Molkereigenossenschaft A, Jahresanlieferung 7,6 Mio kg, erhält Milch aus 27 Dörfern von 308 Lieferanten mit 2.389 Kühen, ø je Betrieb 7,8 Kühe (Abb. 5).

Vor der Umstellung auf Tankanlieferung waren 11 Fahrer, 1 Beifahrer, 8 Traktoren und 3 Pferdefuhrwerke täglich 242 km fahrend tätig.

Nach der Umstellung bei 2-maliger täglicher Abholung sind 4 Sammelwagen tätig und haben 263 km zu fahren.

Die Molkerei A beschäftigt 3 Sammelwagen a 3,5 to und 1 Sammelwagen a 4 to (Daimler-Benz) ganzjährig mit zweimal täglicher Anfuhr. Die Anschaffungskosten je Fahrzeug belaufen sich auf 40-43.800 DM.

Abb. 5. — Eine schematische Gegenüberstellung der Milchanfuhr früher und jetzt.

Die Jahresrechnung 1959 ergab :

a) *feste Kosten* :

Anschaffungskosten der Fahrzeuge :	DM	165.000.—
davon 17 % Afa		
Garage, Gesamtkosten	»	27.000,—
davon 2,5 % Afa		
Vorstapelung : 4 × 5.000 Ltr.	»	16.000,—
2 × 7.500 »		
1 × 1.000 »		
(Nirosta und Aluminium)		
262 m³ umbauten Raum	»	22.000,—
davon 2,5 % Afa		
Für Geräte, Milchpumpen, Milchkühler,		
Rührwerk, Rohrleitungen usw.	»	16.000,—
davon 10,0 % Afa		
insgesamt investiert :	»	246.000,—
darauf Abschreibung insgesamt :	»	32.653,—

Hinzu kommen

b) *variable Kosten* : Reifenkosten, Kraftfahrzeugsteuer, Versicherung usw. jährlich	DM	20.332,—
Ausserdem :		
c) *Personalkosten* : Gehälter und Sozialversicherung, Urlaub und Freizeitvertretung	»	37.488,—
d) *fahrstreckenabhängige Kosten* : Dieselverbrauch, Reparaturen, Instandhaltungskosten, Reinigung :	»	24.492,—
e) *sonstige Kosten* : Verwaltung, elektr. Strom, Heisswasser usw.	»	16.243,—
Hieraus ergeben sich Gesamtkosten von	DM	131.186,—
Da die Fahrzeuge und das Personal auch für andere Dienstleistungen in der Molkerei Verwendung fanden, sind die hierdurch entstandenen Kosten gesondert ermittelt in Höhe von und diese von den Gesamtkosten abgesetzt, so dass für Leistungen zur Annahme der Milchkosten der MSW in Höhe von	»	12.412,—
verbleiben.	DM	118.774,—

Daraus errechnen sich *Kosten der MSW von 1,59 Pfg. je kg Anlieferungsmilch.*

Die Anfuhr mit *Pferdefuhrwerken und Traktoren* stellte sich dagegen *auf 1,3 Pfg. je kg Anlieferungsmilch.*

An *Einsparungen durch Wegfall der Kannenwaschmaschine* (Dampf) und der *Gesamtkosten der Annahme* wurden *0,55 Pfg. je kg Anlieferungsmilch* ermittelt, so dass die Anfuhr mittels der MSW eine Gesamtersparnis von 0,26 Pfg. je kg Anlieferungsmilch erbrachte.

Die Molkerei B stellte 1957 die gesamte Anfuhr auf Tankwagen um, Jahresanlieferung : 5,1 Mio kg. 12 Ortschaften mit 242 Lieferanten und 1.500 Kühen, ø je Betrieb 6,2 Kühe.

10 Traktoren und ein Pferdefuhrwerk mit 10 Fahrern und einer täglichen Fahrstrecke von 124km brachten bis dahin die Milch zur Molkerei.

Nach der Umstellung fuhren drei Sammelwagen mit 3 Fahrern 10 Monate im Jahr zweimal täglich, 2 Monate im Jahr einmal täglich (Jan. und Dez.) die Milch.

Es werden verwendet : 3 Drei-Tonner Hanomag-Fahrzeuge mit Anschaffungskosten von rund 35.000.- DM je Fahrzeug.

Auch hierfür ist eine betriebswirtschaftliche Kalkulation erstellt:

a) *feste Kosten*:		
Anschaffungskosten der Fahrzeuge:	DM	105.200,—
davon 17 % Afa		
Garage Gesamtkosten	»	26.600,—
davon 2,5 % Afa		
Geräte Gesamtkosten	»	24.000,—
davon 8-10 % Afa		
insgesamt investiert:	DM	155.800,—
darauf Abschreibung insgesamt	»	20.635,—
Hinzu kommen		
b) *variable Kosten*:		
Steuern, Versicherung, Instandhaltung	»	11.576,—
c) *Personalkosten*	»	23.593,—
d) *fahrstreckenabhängige Kosten*	»	20.991,—
e) *sonstige Kosten*	»	10.961,—
Hieraus ergeben sich Gesamtkosten von	DM	87.756,—
Davon sind abzusetzen für Fremdleistungen — also Leistungen der Fahrer und Fahrzeuge, die nicht der Annahme dienen — in Höhe von	»	10.995,—
Es verbleiben hiermit Kosten der MSW von	DM	76.761,—

Je kg Anlieferungsmilch ergibt sich ein Betrag von *1,497 Pfg.* Die *Kosten der Anfuhr mit Traktoren und Pferdefuhrwerken* beliefen sich vorher auf *1,0 Pfg.* Auch hierbei sind die *Kosten der eingesparten Annahme und der Kannenwaschmaschine* mit *0,5 Pfg. je kg Anlieferungsmilch abzusetzen, so dass sich die Gesamtausgaben kaum verändert haben* (— *0,003 Pfg. je kg Anlieferungsmilch*).

Darüber hinaus sind betriebswirtschaftlich die Kosten ermittelt bei der Molkerei C, die im Küstengebiet liegt und eine Gesamtanlieferung von 27.290.439 kg im Jahre 1959 hat. Davon wurden in diesem Jahr 6.926.790 kg Milch mit vier Sammelwagen angefahren.

Die übrige Milch wurde hierbei noch mit Pferdefuhrwerken, Traktoren und Lastwagen in Milchkannen der Lieferanten angeliefert.

Hierbei haben sich bei 2-mal täglichem Einsatz und der Verwendung der Sammelwagen nur für die Annahmemilch, also nicht für betriebseigene Fremdleistungen, Kosten von *2,167 Pfg. je kg Anlieferungsmilch* ergeben unter Anwendung der gleichen Berechnungsart wie bei den Beispielen A und B.

Bei diesem letzten Beispiel konnten Einsparungen für geänderte Annahme, Wegfall der Kannenwaschmaschine nicht abgesetzt werden.

Seit 1957 werden von den Regierungen des Bundes und der Länder bei der Inbetriebnahme kompletter MSW verlorene Zuschüsse gewährt.

Zuschüsse durch das Bundesernährungsministerium werden gegeben um

a) alle Möglichkeiten der Rationalisierung von Arbeitsvorgängen auf dem Bauernhof und in der Molkerei auszuschöpfen, die noch dazu geeignet sind, bei einer Strukturverbesserung der Molkereiwirtschaft (grössere Einzugsgebiete) hierzu wertvolle Hilfe zu leisten und

b) um damit eine echte Verbesserung der Qualität der Anlieferungsmilch zu erreichen.

Die Zuschüsse zur Anschaffung der MSW werden aber nur für die Aufbauten, nicht für Motor und Chassis, bis zu 50 % als verlorene Geldmittel gegeben.

Als Voraussetzung für die Zuschussgewährung sind folgende Bedingungen gestellt :

1. Mit diesen Fahrzeugen darf nur Milch aus amtlich anerkannt tbc.- und bangfreien Rinderbeständen, die einem Euterüberwachungsdienst angeschlossen sind, angenommen und befördert werden.
2. Die Annahme der Milch muss täglich 2-mal erfolgen, mindestens an Tagen mit einer Aussentemperatur 7 Uhr morgens von mehr als + 7° C.
3. Mit solchen Fahrzeugen angenommene Milch muss 2-2 ½ Stunden nach Beginn der Annahme am Fahrzeug in der Molkerei angeliefert sein und dort sofort auf + 4° C gekühlt werden.
4. Die Fahrzeuge müssen mit einer automatischen Probeentnahme versehen sein, die von einer sachverständigen Behörde bzw. Organisation geprüft ist.
5) Die MSW müssen eine vollständige maschinelle Einrichtung besitzen, wie sie eingangs bereits beschrieben wurde.

Soweit darüber hinaus vorhanden, können in die zu bezuschussende Summe einbezogen werden : Vorrichtung zur Beleuchtung, zur Heizung des Fahrzeuges sowie zur Sattelung der Tanks und evtl. vorhandene Abdeckung bzw. Isolierung der Tanks.

Es gibt in Deutschland Molkereien, die auf diese Zuschüsse verzichten, weil sie grundsätzlich nur die einmal tägliche Abholung eingeführt haben und damit die an eine Zuschussgewährung gestellten Bedingungen nicht erfüllen.

Besondere Merkmale der MSW im praktischen Einsatz:

Das Einschütten der Milch auf offenen Strassen und Plätzen trägt die Gefahr einer Verschmutzung durch Staub und sonstige Verunreinigungen in sich (Abb. 6). Deshalb wird zunehmend die Milch aus schmalen Deckelöffnungen der Transportgefässe oder Hofbehälter abgesaugt.

Bei zweimalig täglicher Abholung ist die Prüfung der Anlieferungsmilch mittels Schnellmethode aus Zeit- und Personalersparnisgründen nicht so korrekt durchführbar wie bei der Kannenanlieferung in der Molkerei. Daher besteht die Gefahr, Milch minderer Qualität mit Milch bester Qualität vermischt in den Tank zu laden.

Bei der Ablieferung von Milch aus kranken Viehbeständen besteht ebenfalls eine Gefährdung des gesamten Tankinhalts.

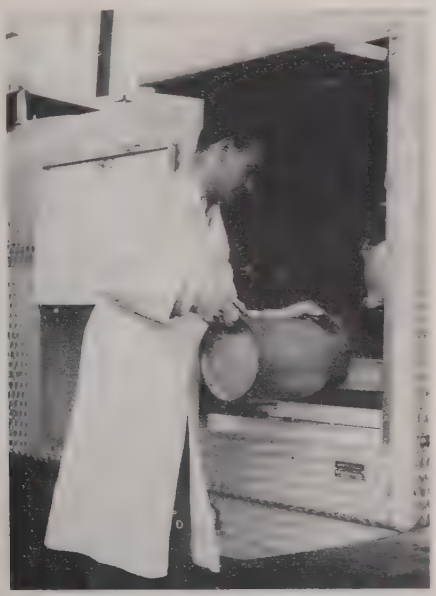


Abb. 6. — Das auskippen der Kannen.

Die Qualität des Sammeltankinhalts leidet ferner, wenn Milch anderer Melkzeiten mit abgeliefert wird.

Betriebswirtschaftliche Nachteile haben sich bei den Molkereien ergeben, die Milch aus Milchkannen und Sammeltanks annehmen. Die MSW-Anlieferung wird auch dann teuerer, wenn die Fahrzeuge nicht innerbetrieblich anderweitig eingesetzt werden können.

Die gründliche Reinigung und Desinfektion der milchberührten Teile der MSW erfordert mehr Sorgfalt und Aufwand als die Behandlung der stationären Anlagen eines Molkereibetriebes (Abb. 7).

Entscheidend ist die Reinigung und Desinfektion der Fahrzeuge und ihrer Aufbauten. Dabei muss unterschieden werden :

a) zwischen der Reinigung und Desinfektion der Annahmepumpe, Einschüttbassin, Messuhr, Rohrleitungen und Probenahmegerät.

Hier ist es möglich, infolge einer Umlaufschaltung nach erfolgter Annahme mit Heisswasser und Lauge das Annahmesystem kurzzuschalten.

b) Die Reinigung der Tanks erfolgt zur Zeit noch manuell. Dabei ist die unmittelbare Einleitung von Dampf ebenso gebräuchlich wie das Ausspritzen mit Lauge, Heiss- und Kaltwasser.

Abb. 7. — Der Tankwagen bei der Reinigung.

Neuerdings wird aber auch das von einer schleswig-holsteiner Firma entwickelte Tankreinigungsgerät verwendet, das stationär und fahrbar hergestellt wird.

Es handelt sich hierbei um eine Hochdruckpumpe mit ca. 25 atü Spritzdruck und einem genormten Stahlkopf mit Antriebsgetriebe, der auf die normalen Tanköffnungen aufzusetzen ist.

Das Spritzgerät ist so konstruiert, dass es mit sehr starkem Druck alle Teile der Tanks, Wandungen usw. gründlich säubert. Infolge des hohen Wasserdruckes ist nachgewiesen, dass eine restlose Reinigung und Desinfektion des Tanks erfolgt.

Durch die Verlagerung der Milchannahme auf das Dorf können in der Molkerei eingespart werden: Annahmerampe, Rollbahn, Milchwaage, Kannenwaschmaschine, Magermilchausgaberampe, die dazu notwendigen Armaturen, Rohrleitungen und das hierzu erforderliche Personal.

Bei Molkereineubauten kann zweischiffig gebaut werden unter Einsparung einer gesamten Abteilung. Für den Bauern fällt bei zweimalig täglicher Abholung und pünktlicher Ablieferung des Gemelks die Anschaffung und Unterhaltung z.T. kostspieliger Kühlanlagen weg. Dieses Argument entfällt jedoch bei einmalig täglicher Abholung. In diesem Fall verbleibt die Aufgabe des besonders intensiven Kühlens beim Bauern.

Die bessere Kühlung der Milch als normalerweise im bäuerlichen Betrieb ist in der Molkerei gegeben.

Der abliefernde Bauer kann sich selbst bei den MSW von der Richtigkeit der Mengenfeststellung (Volumen) und der ordnungsgemäss erfolgenden Probeentnahme überzeugen. Die tägliche Kontaktpflege mit der Molkerei regt zu besonders akkurater und sorgfältiger Milchgewinnung und Milchbehandlung erfahrungsgemäss an.

Der Bauer erhält die Rückgabeprodukte: die Butter, den Speisequark, die Sahne und vor allem die Magermilch sofort ausgeliefert und nicht nach stundenlangem Transport mit Pferdefuhrwerken oder Traktoren später angeliefert, bzw. er muss selbst nicht täglich mehrmals zur Annahme- und Sammelstelle fahren.

Die Reinigung und Desinfektion der Melk- und Transportgefässe der Bauern ist leichter und zuverlässiger nach dem Ausschütten oder Absaugen warmer Milch mit kurzer Verweilzeit in der Kanne durchzuführen.

Die Arbeitseinteilung auf dem Bauernhof wird durch Einsatz der MSW mit feststehenden, auf die Minute einzuhaltenden Abholzeiten gleichmässig reguliert. Bei Verwendung von Hofgefässen entfällt die Beschaffung eines doppelten Transportkannensatzes. Das Hofgefäss ist einfacher und leichter zu reinigen und zu desinfizieren. Das Hofgefäss ist fahrbar konstruiert und erleichtert damit auch den Transport der Milch zum Annahmewagen bezw. zur Sammelstelle.

Für Lieferungen von Milch höherer Güteklassen erhält der Bauer einen höheren Auszahlungspreis.

Eingangs habe ich ausgeführt, dass die MSW als ein auf das Dorf bzw. den Bauernhof verlagerter Arbeitsvorgang der Molkerei anzusehen ist (Abb. 8).

Es ist der Pflege, Behandlung, Reinigung und Desinfektion der MSW daher dieselbe Sorgfalt zu widmen, wie sie normalerweise allen übrigen Einrichtungen der Molkerei zuteil wird bzw. zuteil werden muss, wenn der Betrieb Anspruch darauf erhebt, als moderner, hygienisch einwandfrei arbeitender Lebensmittelbetrieb angesehen zu werden.

In Niedersachsen sind heute bei 16 Molkereien insgesamt 26 Fahrzeuge im Einsatz (weitere 8 Fahrzeuge sind in Auftrag gegeben).

Sehr viele Molkereien befassen sich mit den Möglichkeiten der Umstellung ihrer Anlieferung auf MSW.

Abb. 8. — Der Annahmewagen bei der Milchannahme im Dorf.

Die heute erkennbare Form des Einsatzes und der Verwendung der MSW kann noch nicht als Endlösung der damit verbundenen Probleme angesehen werden.

Die europäische Wirtschaft steht unter dem Wettbewerbszwang der industriellen Weiterentwicklung. Damit verbunden sind höhere Anforderungen der Menschen auf höheren sozialen Wohlstand, höhere Lohnforderungen und Forderungen auf Arbeitszeitverkürzung. Der Mangel an geeigneten Fachleuten ist heute bereits vorhanden, und es deutet alles darauf hin, dass sich dieser Mangel noch verschärft.

Für die Bedienung der MSW aber müssen hochqualifizierte Arbeitskräfte vorhanden sein.

Der Wunsch nach Sonntagsruhe in den Molkereibetrieben vor allen Dingen der städtischen und gross-städtischen Bezirke ist nicht mehr zu überhören.

Deshalb sucht die deutsche Molkereiwirtschaft nach Möglichkeiten, die sich daraus ergebenden Fragen zu lösen.

Gelingt es bei der fortschreitenden Strukturverbesserung der landwirtschaftlichen Betriebe (durchschnittliche Grösse je Betrieb :

1949 :	7,03 ha
1959 :	7,69 »)

die Kühlmöglichkeiten auf dem Bauernhof so auszuführen, dass Milch bis zu 2 Tagen aufbewahrt wird, dann wären Verhältnisse erreichbar, wie sie aus einigen Bezirken der Vereinigten Staaten von Nordamerika bekannt sind.

Das Tankfahrzeug mit entsprechender Vorstapelung in der Molkerei bietet Möglichkeiten, den Molkereibetrieb auf Arbeitszeiten einzustellen, die der industriellen Beschäftigung vergleichbar sind (Abb. 9).

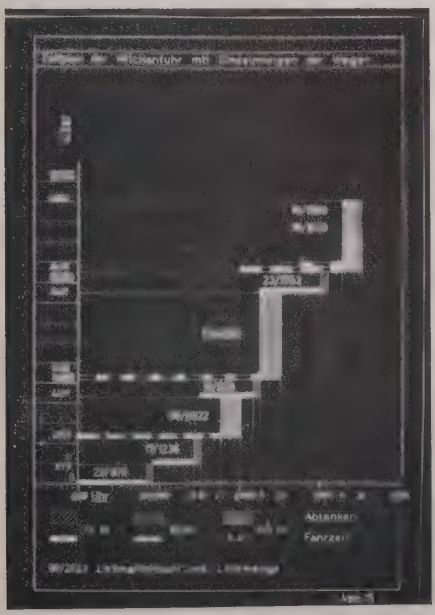


Abb. 9. - Eine schematische Darstellung des zeitlichen Ablaufs in der Molkerei bei der Anfahrt der Milchsammelwagen.

Die Milchwirtschaft unseres Landes muss sich mit diesen Problemen auseinandersetzen.

Wurde bei uns anfangs die Einführung der MSW unter dem Motiv gestartet, Arbeits- und Materialeinsparungen auf dem Bauernhof zu erreichen, so zeigt der heutige Stand der Entwicklung zumindest hinsichtlich der verbleibenden Aufgabe des Kühlens der Milch eine teilweise Umkehr unserer ursprünglichen Auffassung.

Wir müssen wieder stärker betonen, dass die Kühlung der Milch auf dem Bauernhof bei denjenigen Molkereibetrieben, die sich auf industrielle Bedingungen einstellen müssen, wieder stärker propagiert werden muss.

Es wird also in Zukunft die entscheidende Frage sein :

Täglich einmalige oder wöchentlich 3-malige Abholung.
Grösster Grad der hygienischen Gewinnung und Behandlung sowie Aufbewahrung der Milch auf dem Bauernhof, einwandfreie Kühlung der Milch unter + 10°C zur Aufbewahrung für längere Zeit.

oder

täglich zweimalige Abholung durch die Molkerei,
mit Tiefkühlung bei Vorstapelung in der Molkerei.

Hierbei muss sich der Bauer an peinliche Sauberkeit und Hygiene beim Melken der Milch gewöhnen und dann zur entsprechenden Tageszeit jeweils das gewonnene Gemelk zur Anlieferung bringen.

Dann kann hierbei auch weiterhin, insbesondere für den kleinen und mittelbäuerlichen Betrieb, eine echte Material- und Arbeitsersparnis eintreten, weil er aller Arbeiten der Kühlung der Milch, einer erhöhten Reinigung und Desinfektion, einer grösseren Menge von Transport- oder Aufbewahrungsgefässen entledigt wird.

Die Entwicklung der fahrbaren Melkwagen ist in der Bundesrepublik zum Stagnieren gekommen, weil diese Wagen nur für bestimmte Typen bäuerlicher Betriebe rentabel sind und die Anforderungen an den Melktruppführer im Verhältnis zu der hierfür möglichen Arbeitsentlohnung zu hoch sind (Abb. 10).

Bei der Gewährung öffentlicher Zuschüsse für die Anschaffung von MSW sollte man den anschaffenden Betrieb von der Notwendigkeit einer nach kaufmännischen Gesichtspunkten aufzustellenden Kalkulation nicht befreien.

Solche Zuschüsse können nur den Charakter einer Einführungshilfe im Versuchswege auszuprobierender Maschinen und Geräte tragen.

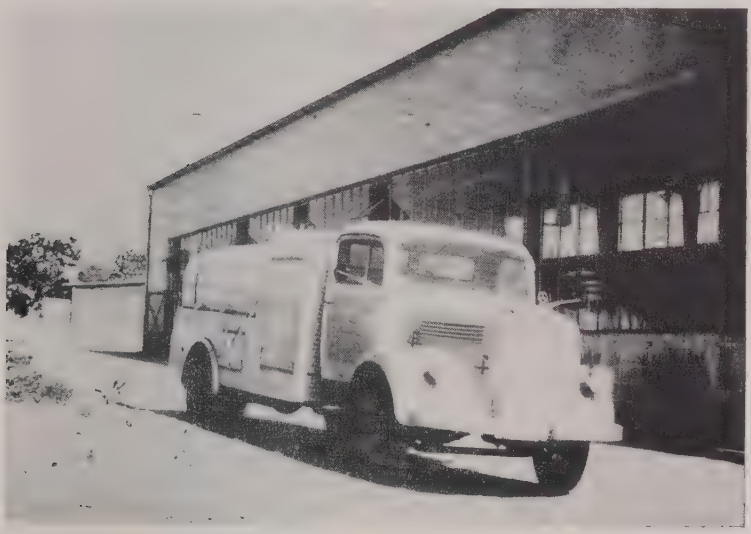


Abb. 10. — Ein Sammelwagen vor dem Molkereigebäude.

In Deutschland wird planmässig auch die Strukturverbesserung der Milchbe- und Verarbeitungsbetriebe unterstützt.

1957 hatten wir in Deutschland		2.973 Molkereien
1959 » » »	»	2.799 »

Die Milchsammelwagen beweisen, dass das Heranbringen der Milch auf grössere Entfernungen ohne Qualitätsminderung möglich ist.

Abkehr von der traditionellen Milchanfuhr mittels Pferdefuhrwerk und Milchkanne zum modernen schnellaufenden MSW prägt das Bild unserer Zeit.

Zusammenfassung

Die technische Ausstattung der « Fliegenden Annahme » (oder Milchsammel-Express) auf Motorwagen oder Anhängerwagen mit Batterieantrieb für Geräte wird mit Einzelheiten beschrieben.

Vor- und Nachteile im praktischen Einsatz aus der Sicht des Veterinärmediziners gesehen.

Einsparung an Transportkannen, Kühlgeräten, Desinfektionsmitteln, bessere Arbeitszeitausnutzung, höhere Qualität der Anlieferungsmilch, — bessere Verwertungsmöglichkeit der Molkereirückgabeprodukte — bessere Kontaktpflege sind die Hauptmerkmale beim Bauern !

Entscheidung bei der Molkerei :

Tankanlieferung oder Kannenanlieferung ?

Umstellung besonders bei Molkerei — Um- oder Neubauten richtig, da Einsparungsmöglichkeit des Annahme- und Ausgaberaumes, der entsprechenden Geräte hierfür und der Kannenwaschmaschine möglich.

Grösserer Aktionsradius der Molkereien,

Günstigere Arbeitszeitgestaltung (Sonntagsruhe !)

Höhere Qualität der Anlieferungsmilch vom Erzeuger.

Möglichkeit besserer Kostengestaltung.

Die Anschaffung von « Fliegenden Annahmewagen » wird wegen Qualitätsverbesserung der Milch und rationeller Arbeitsmöglichkeiten beim Bauern und in der Molkerei aus Staatsmitteln mit 33-50 % der Aufbauten (ausschliesslich Motor und Chassis) bezuschusst.

Beratung und Beeinflussung der Milchlieferanten für saubere Gewinnung und Behandlung der Milch und pünktliche Ablieferung ist Voraussetzung !

Umstellung von mehreren Milchtransportgefässen auf einen modernen Hofbehälter, für Absaugvorrichtung geeignet, ist wünschenswert.

Kostenvergleiche vor und nach der Umstellung der Milchanlieferung werden zahlenmässig an Beispielunterlagen belegt.

Wünschenswert ist ein robustes narrensicher arbeitendes Fahrzeug mit einfach bedienbarer Geräteanordnung und Desinfektionsmöglichkeit.

Die Milchberührten Teile müssen alle aus nichtrostendem und säurebeständigem Stahl sein.

Bisherige Erfahrungen durchaus zufriedenstellend und für die weitere Verbreitung anregend.

Im praktischen Einsatz technische Verbesserungen noch möglich.

In Niedersachsen bisher bei 16 Molkereien 26 Fahrzeuge im Einsatz. Weitere Umstellungen zur fahrbaren Annahme sind in Vorbereitung.

Expériences pratiques sur le « ramassage express » du lait

Résumé

L'auteur décrit en détail l'installation technique pour le ramassage express du lait par camion ou remorque.

Il donne les avantages et désavantages de l'utilisation pratique vue sous l'angle vétérinaire.

Il souligne pour les fermiers, l'économie de bidons de transport, de réfrigérateurs de produits désinfectants ; la meilleure distribution du travail, la qualité plus élevée du lait livré, l'amélioration des possibilités de l'utilisation des produits laitiers.

Cette technique pose des problèmes pour les laiteries : ramassage à partir de tanks ou de bidons à la ferme ? transformation ou nouvelles constructions, par suppression de la salle de réception et de ses machines. La laiterie peut

avoir un rayon d'action plus grand, avoir un « timing » de travail meilleur, diminuer certains frais. L'achat des camions de ramassage nécessite un investissement important, mais l'amélioration de la qualité du lait ainsi que l'effort de rationalisation du travail tant à la ferme qu'à la laiterie justifient une aide de l'état (33 à 50% du prix de l'installation de transport à l'exclusion des moteurs et chassis). L'éducation des producteurs de lait est indispensable pour assurer les manipulations soigneuses du lait et une livraison ponctuelle ; l'emploi d'un seul récipient d'où le lait est aspiré est préférable à plusieurs petits.

Il est nécessaire de disposer de camions solides et sûrs pourvus d'une installation simple, pratique et facile à désinfecter ; toutes les parties métalliques en contact avec le lait doivent être en acier inoxydable.

Des comparaisons chiffrées des frais avant et après transformation sont présentées.

Les expériences sont concluantes et méritent d'être étendues ; des améliorations techniques sont toutefois encore possibles. Dans la Basse-Saxe, 16 laiteries utilisent 26 camions ; d'autres ramassages express du lait sont en voie d'organisation.

Practice with the milk collecting express

Summary

The technical equipment of the « Flying Reception » (or milk collecting express) by motor lorry or trailer with battery drive for implements is described in detail.

Advantages and disadvantages of the unit in practical use seen from the view of the veterinary officer.

Saving of transport cans, cooling implements, disinfectants, better use of working hours, higher quality of delivered milk, better use of dairy secondary products, better cultivation of relations are the main features in the intercourse with farmers !

Decision to be made by the dairy :

Delivery by tank or by milk-cans ?

Changes, especially in the case of dairy re-buildings or new buildings are advisable, as there is a chance of saving space concerning reception and delivery, and of saving implements used for these purposes and of a washing-machine.

Greater effective range of the dairies, more favourable use of working hours (observance of the sabbath !) higher quality of delivered milk from the producer. Possibility of improved calculation of prices.

The purchase of « Flying collecting lorries » is assisted on account of the improvement of quality of the milk and rational working methods on the farms and in the dairy by subvention from public funds at the rate of from 33 % to 50 % of any new constructions (excluding engine and chassis).

Advising and influencing of the supplier of milk with regard to the production of clean milk and to the treatment and punctual delivery of milk is an essential condition !

Changing from the use of several milk transport containers to a modern tank on the farm, which is adapted to a sucking attachement, is desirable.

Comparisons undertaken before and after making a change in milk delivery are corroborated by documentary examples.

A strong and foolproof working vehicle with an equipment of convieniently operating implements and a contrivance for disinfection is to be desired.

All parts that are contacted by milk should be made of non-corrosive and acid-proof steel.

Pratical experience has proved absolutely satisfactory up to the present and stimulating regarding further propagation.

Technical improvements in practical use are possible.

In Land Niedersachsen 26 vehicles are being employed with 16 dairies up to the present time. Further changes from the customary method to the delivery by transport vehicles are contemplated.

Les expériences françaises de refroidissement du lait à la ferme

Résultats techniques et économiques

par Michel Anquez
Ingénieur en Chef du Génie Rural
Chef du Service Technique Central du Froid
au Ministère de l'Agriculture, Paris (France)

1. — Introduction

La production d'un lait de qualité devient de nos jours un impératif hygiénique et économique. Impératif hygiénique, car il importe de fournir à la population un produit de haute qualité nutritive, exempt de germes nocifs ; impératif économique, car, dans une ère de surproduction, seules les denrées répondant à des critères élevés de qualité trouveront preneur sur le marché.

Les premiers efforts à entreprendre porteront sur l'amélioration de la qualité du lait à la traite : propreté des bêtes, propreté du personnel, propreté des étables, propreté de la vaisselle laitière, des machines à traire surtout. Malgré toutes les précautions prises, la traite ne peut être aseptique ; des microorganismes, banaux le plus souvent, se trouvent toujours dans le lait ; on ne peut guère descendre, en pratique, en dessous de 5.000 germes par millilitre. Il faut alors empêcher la prolifération de ces microorganismes, jusqu'à l'arrivée à l'usine laitière. Et c'est alors que le froid prend tout son intérêt, car il peut seul limiter un développement excessif des germes ; il faut, pour cela, ramener, en moins de 2 heures, la température moyenne du lait à moins de 10° C.

De nombreuses études ont déjà été entreprises en France dans ce domaine. Mais ce n'est que depuis 2 ans, en 1958 et en 1959, qu'une expérimentation systématique a été organisée, dans une coopérative de Touraine, à Verneuil-sur-Indre, afin de comparer, in situ, les divers appareils de refroidissement mis sur le marché. Ces études, menées à l'instigation du Comité National du Froid Rural par le Centre de Recherches et d'Expérimentation de Génie Rural, ont permis de confirmer de nombreux aspects déjà connus du problème à résoudre et ont en outre attiré l'attention sur certains points nouveaux. C'est une synthèse de toutes ces recherches que je voudrais

résumer devant vous en y ajoutant in fine quelques indications d'ordre économique et psychologique, dont l'importance ne doit pas être méconnue.

2. — Les techniques de refroidissement utilisées en France : leurs avantages et leurs inconvénients

Trois des méthodes employées sont connues depuis longtemps : le ruissellement, l'immersion, l'aspersion. Deux autres, plus récentes, se sont développées depuis quelques années : la congélation partielle du lait et le refroidissement par la glace hydrique. Enfin, on commence à voir apparaître une technique, déjà largement utilisée aux États-Unis, le refroidissement du lait en vrac.

21. *Ruissellement*

Le principe de l'opération est simple : le lait ruisselle, en nappe mince, sur un échangeur thermique constitué par une nappe de tubes parcourus par un agent de refroidissement : eau fraîche, eau glacée, saumure, fluide frigorigène en détente directe (fig. 1).

Le refroidissement est alors très rapide : en quelques minutes, le lait est ramené à une température voisine de celle de l'agent de refroidissement (en pratique la température du lait est supérieure de 2 à 3° C seulement à celle du médium utilisé).

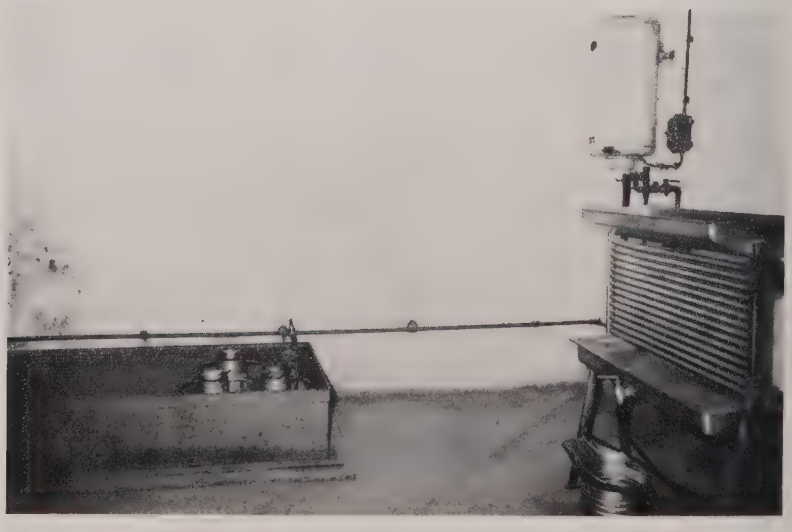


FIG. 1. — Refroidisseur à ruissellement

Un certain nombre d'avantages sont à porter à l'actif de cette méthode : refroidissement rapide, pertes de froid nulles à l'arrêt, désodorisation due à l'aération du lait. Mais en contrepartie, cette technique entraîne des inconvénients réels. On risque une pollution supplémentaire du lait au contact de l'air ambiant, d'où la nécessité, pour limiter ce risque, d'opérer en ambiance calme et propre et de nettoyer soigneusement l'appareil après usage. D'autre part, la manutention des pots est pénible, car il faut les élever jusqu'à une hauteur de 1,50 m. au dessus du sol ; cet inconvénient, il est vrai, disparaît si on envoie le lait sous vide à partir d'une salle de traite. En outre, il faut disposer d'un local de conservation du lait refroidi, en pratique une armoire fermière ou une capacité située à la partie inférieure de l'appareil. Il est à peu près impossible d'adjoindre à ce matériel une case spéciale réservée au refroidissement des denrées. Enfin, il semble que la consommation d'énergie électrique soit assez importante : 85 Wh par litre sur un prototype essayé à Verneuil-sur-Indre.

Pour toutes ces raisons, la méthode du ruissellement ne peut se justifier que dans des exploitations laitières importantes, d'autant plus que le prix de revient de l'opération n'est compétitif que pour une forte production, supérieure en fait à 120 litres par jour.

22. *Immersion*

Le principe de la méthode consiste à immerger les bidons de lait dans un bac isolé contenant de l'eau froide. Cette eau peut être constamment renouvelée, en montagne par exemple, si l'on dispose d'eau assez fraîche (8 à 10° C) et abondante (il faut compter 7 litres d'eau fraîche par litre de lait à refroidir) ; elle peut au contraire être refroidie artificiellement et être maintenue au voisinage de 0°C grâce à une installation frigorifique : c'est ce deuxième cas qui est le plus fréquent en France et qui a fait l'objet d'expérimentations à Verneuil-sur-Indre (fig. 2).

Les résultats obtenus sont satisfaisants : la température moyenne du bidon passe de 30-32° C à 10-12° C environ après deux heures d'immersion. La consommation d'énergie électrique est de l'ordre de 20 à 30 Wh par litre de lait.

Pour accélérer le refroidissement, on a envisagé des appareils permettant l'agitation de l'eau ou du lait ; bien que des dispositifs ingénieux aient été mis au point, ce perfectionnement théorique ne s'est pas développé en raison des sujétions pratiques qu'il impose.

Les avantages de cette méthode sont faciles à mettre en évidence : les appareils sont très robustes et ne demandent qu'un entretien limité ; le stockage du lait est réalisé dans d'excellentes conditions, puisqu'il

suffit de laisser les bidons dans le bac jusqu'au moment du ramassage ; enfin, avec le même groupe frigorifique, il est possible d'adjoindre au refroidisseur de lait une armoire fermière pour le refroidissement des denrées, ce qui est particulièrement prisé dans les exploitations moyennes.

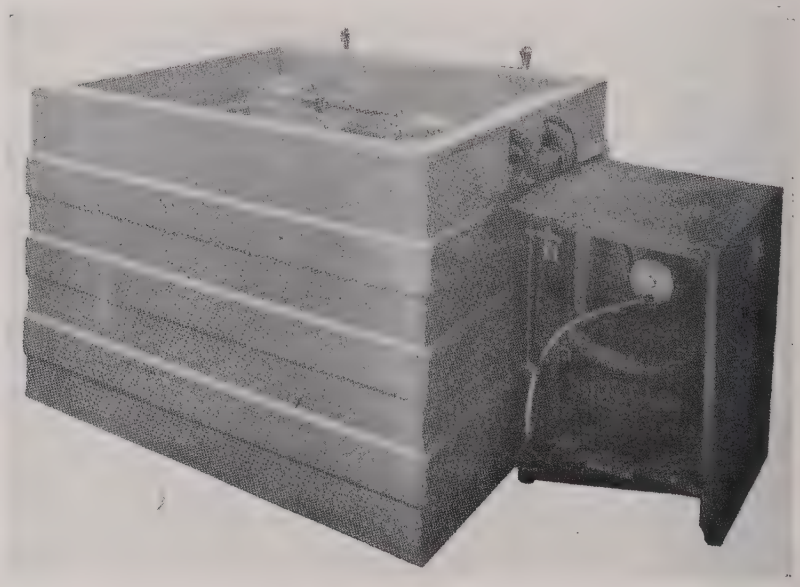


Fig. 2. — Bac à immersion avec installation frigorifique.

Bien entendu, il y a quelques revers à la médaille. Le refroidissement est en effet relativement lent, encore que suffisant. La manipulation des pots est pénible, sinon très difficile là où on utilise des pots de 40 litres (dans ce cas on a quelquefois muni les appareils de palans pour faciliter la manutention). Le lait, dans les bidons, doit être à un niveau inférieur à celui de l'eau du bac, pour obtenir un bon refroidissement du col du bidon, là où monte la crème et où l'on compte le maximum de germes. Enfin, des dispositifs doivent être prévus pour empêcher que les bidons incomplètement remplis ne flottent sur l'eau.

23. *Aspersion*

Cette méthode consiste à placer les bidons sur un caillebotis situé à la partie supérieure d'un bac à eau glacée, de faible capacité, dans lequel se trouve l'évaporateur d'une machine frigorifique (fig. 3). Un volant de froid est constitué, comme dans la méthode précédente, par

accumulation de glace sur les serpentins évaporateurs. L'eau glacée est pompée de ce bac dans des colliers placés sur l'épaulement des bidons et percés de fins orifices ; l'eau ruisselle ensuite en nappe mince sur la paroi des bidons puis tombe dans le bac.

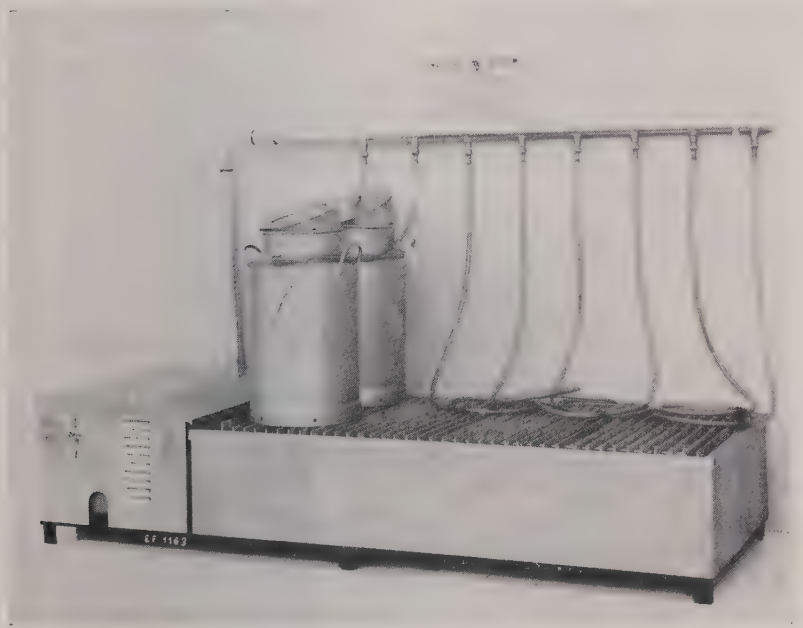


Fig. 3. — Refroidissement à aspersion d'eau glacée

Le refroidissement est assez rapide : on obtient, en 1 heure 15 en viron, une température moyenne de 10 °C dans le pot. Mais il convien de noter que le refroidissement est plus lent au col du bidon, endroi où les germes tendent à se développer le plus rapidement. La consom mation d'énergie électrique ressort à 35 Wh environ par litre de lait [1]. Ces appareils présentent eux aussi de réels avantages : le refroi dissement est assez rapide ; la manutention des bidons n'entraîne aucun travail pénible, car le seuil du bac dépasse rarement 40 cm ; il est en outre assez aisé d'installer un coffre réservé au stockage des denrées périssables. Ces appareils restent robustes, moins cependant que les bacs à immersion, par suite de la présence d'une pompe. Quelques inconvénients doivent toutefois être notés : les orifices des colliers risquent de se boucher ; aussi importe-t-il de pouvoir nettoyer facilement et efficacement le dispositif d'aspersion. D'autre part, la concep-

tion de ces appareils ne permet pas le stockage du lait refroidi, à moins d'avoir recours à des artifices qui entraînent évidemment une augmentation du prix : housses isolantes posées sur les bidons, dont l'efficacité est d'ailleurs sujette à caution ; capot isolant sur l'appareil ; enfin tout le dispositif peut être enfermé dans une armoire isolée, munie de portes que l'on ouvre pour introduire les bidons.

Fig. 4. — Tourniquet hydraulique

Une variante de cette méthode, très employée en France, consiste à faire ruisseler, non plus de l'eau glacée, mais de l'eau fraîche sur les bidons : les appareils, appelés tourniquets hydrauliques, se posent sur l'épaulement des bidons (fig. 4). L'agent de refroidissement, l'eau fraîche, est admise à faible pression dans une turbine qui entraîne un agitateur plongeant dans le lait ; à la sortie de la turbine, l'eau ruisselle en nappe mince sur la paroi extérieure du bidon.

Les résultats obtenus sont assez satisfaisants, moyennant une consommation de 5 à 6 litres d'eau par litre de lait, on abaisse en 15 à 20 minutes la température du lait à une température supérieure de 2 à 3°C à celle de l'eau. On peut ainsi, dans la plupart des cas, refroidir le lait à une température de 16 à 18°C. Ce niveau de température est encore trop élevé ; il faut ensuite placer les bidons prérefroidis dans une armoire fermière, jusqu'au moment du ramassage. On a ainsi obtenu de très bons résultats dans une coopérative du département de l'Yonne.

Ce système, très simple, très rustique, ne demande aucun travail pénible. Mais il est nécessaire, sauf peut-être en montagne, d'avoir recours à un stockage ultérieur en armoire fermière. En outre, comme l'agitateur plonge dans le lait, il est indispensable de nettoyer soigneusement l'appareil, après chaque utilisation, sous peine d'entraîner une pollution complémentaire du lait.

24. *Congélation partielle du lait*

Cette méthode, qui a connu une certaine faveur au cours des dernières années, consiste à ajouter, au lait fraîchement trait, 25 à 30 % du lait de la traite précédente, congelé dans l'évaporateur renforcé d'une armoire fermière classique. La consommation d'énergie ressort à 45 Wh environ par litre de lait, y compris il est vrai, le refroidissement des denrées contenues dans l'armoire.

La vitesse de refroidissement est assez rapide : en moins d'une heure, la température moyenne du lait est ramenée à moins de 10°C ; il est intéressant de noter que le refroidissement est plus accentué à la partie supérieure du pot, là où monte la crème, ce qui est l'inverse des résultats obtenus, avec les autres méthodes. En outre le refroidissement peut s'effectuer dans le véhicule qui transporte le lait à la laiterie, ce qui est un avantage réel pour la traite du matin. D'autre part, cet appareil est avant tout une armoire fermière qui apporte un élément de confort très apprécié à la ferme. Enfin le stockage du lait refroidi s'opère aisément dans l'armoire fermière elle-même : la manipulation des bidons est très facile, car on place les bidons à la partie inférieure de l'appareil.

Malheureusement, cette méthode, à priori très séduisante, comporte un certain nombre d'inconvénients graves. L'utilisateur doit consentir un travail supplémentaire appréciable pour le lavage des bacs de congélation, à l'eau chaude et aux détergents (20 à 30 minutes par traite) ; et pourtant ce travail est absolument indispensable sous peine d'entraîner une sérieuse pollution supplémentaire du lait. En outre le remplissage des bacs, la manipulation des glaçons de lait, leur

démoulage, demandent une réelle adresse et surtout une très grande propreté. Enfin, la congélation du lait étant assez lente (6 à 8 heures), il se produit une certaine séparation entre les phases aqueuse et grasse ce qui peut entraîner des accidents dans les industries de transformation, en fromagerie par exemple. Il semble néanmoins que, malgré ces inconvénients, cette méthode soit intéressante pour les petites fermes laitières (moins de 40 litres par jour).

25. *Refroidissement par glace hydrique*

Le principe de la méthode consiste à refroidir le lait grâce à la fusion de petits cubes de glace d'eau placés dans un entonnoir posé sur le col du bidon : le refroidissement est obtenu par contact et aussi par ruissellement de l'eau de fusion de la glace sur la paroi externe du bidon. La glace peut provenir d'une usine voisine, si la ferme laitière est au voisinage d'une ville, ou être fabriquée dans un réfrigérateur ménager ou une armoire fermière. Il faut compter environ 6 kg de glace pour refroidir à 11°C, en 1 heure, le lait d'un bidon de 20 litres. La consommation d'énergie électrique, dans le cas de la fabrication de glace par un réfrigérateur ménager, s'élève à 75Wh par litre de lait dans un prototype expérimenté à Verneuil-sur-Indre.

Les avantages de cet appareil ne sont pas négligeables : il est simple et robuste ; mais il ne résout pas le problème du stockage du lait, sinon en armoire fermière et sa conception interdit évidemment la possibilité d'adjoindre un dispositif spécialisé pour la conservation des denrées.

Bien que ce système en soit encore à l'état de prototype (une vingtaine d'appareils en service), il est certain qu'il peut rendre d'appréciables services dans les petites fermes, surtout lorsqu'elles sont situées au voisinage d'une fabrique de glace.

26. *Refroidissement en vrac*

Il convient de citer ici cette méthode, qui n'existe qu'en un ou deux exemplaires actuellement en France. Né aux États-Unis, développé aussi en Grande Bretagne, ce système consiste, on le sait, à refroidir le lait de plusieurs traites successives dans des tanks, d'une capacité unitaire de 250 litres au minimum, ces tanks étant munis d'une double enveloppe dans laquelle circule soit de l'eau glacée, soit un fluide frigorigène détendu.

Les résultats obtenus sont excellents, l'expérience américaine le prouve. Mais cette méthode n'est qu'un des éléments d'une révolution complète des livraisons à la laiterie : apport en citerne, ramassage non plus quotidien, mais tous les deux, sinon tous les trois jours. Elle

est intéressante surtout dans des régions de grandes exploitations et implique que des tournées entières soient équipées : deux expériences au moins sont actuellement en cours en France, l'une dans le Vexin, région d'exploitations importantes, l'autre au contraire en Loire-Atlantique, dans une zone de fermes moyennes ou petites.

3. Problèmes économiques et psychologiques

31. *Coût du refroidissement du lait*

Le prix de revient de la réfrigération du lait est calculé en fonction des hypothèses suivantes :

— Refroidisseur acheté par l'agriculteur (et non fourni, en tout ou partie, par la coopérative ou l'industriel laitier), déduction faite de la détaxe accordée par le Service du Génie Rural sur les achats de matériel agricole. Cette détaxe est de 10 % sur les appareils servant uniquement au refroidissement du lait, de 5 % sur les appareils mixtes, c'est-à-dire assurant également un service ménager (armoires fermières équipées pour la congélation du lait, refroidisseurs dotés d'un compartiment pour la conservation des denrées).

— Taux d'intérêt de l'argent : 5 % et durée d'amortissement : 5 ans, ce qui représente une annuité de 23 % ; cette durée d'amortissement est certes arbitraire, mais elle correspond à la durée de la garantie qui couvre les compresseurs frigorifiques hermétiques qui équipent les refroidisseurs à lait.

— Prix du kilowatt fixé à 0,12 NF, ce qui correspond à la moyenne rurale.

Le prix de revient a été calculé pour différentes exploitations produisant en moyenne 20, 40, 80, 120 et 200 litres de lait par jour et mettant en œuvre des refroidisseurs à lait adaptés à leurs besoins, c'est-à-dire :

ferme de 20 litres/jour :	tourniquet hydraulique et armoire fermière ou congélation partielle du lait.
ferme de 40 litres/jour :	congélation partielle du lait
ferme de 80 litres/jour :	refroidisseur à aspersion ou à immersion.
ferme de 120 litres/jour :	refroidisseur à aspersion ou à immersion.
ferme de 200 litres/jour :	refroidisseur à immersion ou à ruissellement.

Nous calculerons en détail le prix de revient dans le cas de la congélation partielle du lait pour une très petite exploitation (20 litres/jour, soit 7 000 litres/an), puis nous donnerons le résultat obtenu avec les mêmes hypothèses pour les autres cas.

Pour la petite exploitation laitière, on a supposé que la glace de lait était fabriquée dans une armoire fermière de 670 litres produisant 10 kg de glace de lait par jour et pouvant stocker 2 bidons (prix d'achat 3.100 nouveaux francs environ) ; la même armoire non équipée pour la congélation du lait coûte 2.800 NF. L'amortissement de la partie de l'appareil qui sert uniquement à la réfrigération du lait s'applique théoriquement à la somme de 3.100-2.800 = 300 NF. Le calcul du prix de revient est alors très simple :

$$\begin{aligned} \text{amortissement} : \frac{300 \times 0{,}23}{7000} &= 0{,}01 \text{ NF} \\ \text{électricité} : \quad 0{,}045 \times 0{,}12 &= 0{,}0055 \text{ NF} \\ \text{entretien et divers estimé à} \quad & 0{,}0025 \text{ NF} \\ & \overline{\qquad\qquad} \\ & 0{,}018 \text{ NF} \end{aligned}$$

Le même calcul, appliqué aux autres cas, donne les résultats suivants :

ferme de 20 litres/jour	:	tourniquet hydraulique et armoire fermière	= 0,018
ferme de 40 litres/jour	:	congélation partielle du lait	= 0,018
ferme de 80 litres/jour	:	refroidisseur à immersion	= 0,024
		» à aspersion	= 0,028
ferme de 120 litres/jour	:	refroidisseur à immersion	= 0,022
		» à aspersion	= 0,026
ferme de 200 litres/jour	:	refroidisseur à immersion	= 0,018
		» à ruissellement	= 0,026

Le calcul explicité montre que l'amortissement des appareils est de bien loin le poste le plus lourd du prix de revient. La durée admise est évidemment arbitraire, mais l'expérience montre que la manipulation des bidons, lourds et volumineux, entraîne inévitablement une dégradation assez rapide des bâtis et des isolations des refroidisseurs.

Il faut noter également que la méthode de congélation partielle du lait est avantageuse sur le plan financier, parce que l'on a limité, arbitrairement, l'amortissement à la fabrique de glace de l'armoire frigorifique. En réalité, il faut bien reconnaître que, chaque fois que le refroidissement du lait requiert l'intervention d'une armoire fermière, le calcul du prix de revient de la réfrigération du lait devient spécieux, car il est bien difficile alors de faire le partage entre les besoins professionnels et les besoins ménagers ; d'autre part, les facteurs psychologiques qui jouent un rôle considérable dans le choix de ces appareils ne sont évidemment pas chiffrables.

Toutes les indications données jusqu'ici intéressent le refroidissement du lait pratiqué à la ferme. Mais il existe aussi des installations collectives, appelées centres de groupage (nous en dirons un mot dans un

instant), où l'on refroidit tout le lait d'un village ou d'un hameau. Les prix de revient ont été calculés d'après les dépenses réelles d'exploitation ; on arrive à des prix qui varient de 0,014 NF par litre de lait dans le cas d'utilisation d'eau naturellement très fraîche, à 0,032 dans le cas d'installations à immersion ou à aspersion. Ces prix relativement élevés pour des équipements importants (600 litres/jour) s'expliquent par le fait qu'il a fallu construire ou aménager des bâtiments, et aussi par l'incidence des frais de main d'œuvre qui ont été négligés sciemment dans le cas des installations individuelles.

Fig. 5. — Appareil à immersion collectif 400 l/jour

32. *Installations collectives et individuelles*

On peut se demander s'il est préférable de prévoir le refroidissement à la ferme elle-même ou au centre de groupage. Cette deuxième solution, qui n'est d'ailleurs concevable qu'en région d'habitat groupé, offre des avantages certains pour l'usine laitière : le ramassage se trouve en effet singulièrement simplifié. En outre, cette méthode devrait pouvoir se prêter plus facilement que les autres au refroidissement en vrac, en raison des grandes quantités de lait collecté ; mais alors le centre de groupage devient presque une petite laiterie, où l'on doit organiser la réception, le pesage, voire le lavage des bidons des producteurs. En fait, jusqu'ici, on a tendance à individualiser les apports, à conserver le lait dans les bidons des producteurs, le refroidissement se faisant par aspersion ou par immersion (fig. 5 et 6).

Cette méthode s'est développée dans l'Est de la France : Alsace, Franche-Comté, Côte-d'Or, toutes régions d'habitat groupé. En Al-

Fig. 6. — Centre de groupage de la Côte d'Or

sace, ces centres de collecte sont souvent jumelés à des installations collectives de congélation (locker-plants). Récemment, un centre de groupage important (plus de 5.000 litres/jour) a été installé en Normandie. Il existe actuellement environ 600 centres de groupage, qui intéressent à peu près 40.000 producteurs (soit à peu près 3 % des producteurs de lait français) (fig. 7).

Dans toutes les autres régions françaises, c'est la solution individuelle qui a prévalu. Cette formule peut évidemment s'appliquer n'importe où ; elle respecte d'autre part l'individualisme, souvent très accusé, du producteur, qui n'est pas astreint à la discipline collective du centre de groupage où le lait doit être apporté à une heure déterminée ; dans le même ordre d'idées, et dans la mesure où l'initiative lui en revient, l'agriculteur peut choisir son appareil, ce qui représente une certaine garantie pour son utilisation ultérieure.

On compte qu'actuellement 70.000 fermes disposent d'un équipement plus ou moins rudimentaire pour le refroidissement du lait ; mais la plus grande partie des exploitations (65.000) emploient une réfrigération à l'eau courante qui demeure insuffisante, sauf dans certaines zones alpestres. Sur ces 65.000 fermes, 50.000 sont équipées de tourniquets hydrauliques. Parmi les 5.000 agriculteurs qui refroidissent leur lait par le froid artificiel, 1.500 utilisent des appareils à immersion, 1.500 des appareils à aspersion et 1.500 également la con-

gélation partielle du lait ; on estime à 600 le nombre des appareils à ruissellement.

C'est dire qu'un effort considérable reste à entreprendre en France pour généraliser le refroidissement du lait.

Fig. 7. — Centre de groupage de St. Germain l'Eetat (Calvados)

33. *Les encouragements apportés en France au refroidissement du lait à la production*

Cependant, dès maintenant, pour faciliter le développement du refroidissement du lait à la production, des avantages financiers sont accordés aux producteurs, aux industriels laitiers et aux coopératives.

Les producteurs bénéficient de la détaxe (5 ou 10 %) sur le matériel agricole et, dans certains départements, d'une subvention supplémentaire de 10 à 15 %, accordée par les Services Agricoles. Les sociétés industrielles ou coopératives qui ont décidé d'équiper un bassin laitier peuvent bénéficier de prêts à moyen terme (8 ans) et à taux réduit 2 %), auprès de la Caisse Nationale de Crédit Agricole ou d'autres organismes bancaires.

Mais ces initiatives d'origine gouvernementale se révèlent insuffisantes pour entraîner un développement massif du refroidissement du lait à la production. Il en va tout autrement lorsque les sociétés laitières, qu'elles soient coopératives ou industrielles, se rendent compte de l'intérêt d'obtenir un lait de qualité : le lait est payé en fonction

de sa qualité bactériologique, vérifiée par des tests bien au point tels que la réductase ou la résazurine, et le producteur reçoit des primes d'après la teneur en germes de son lait. Outre une amélioration des soins apportés à la traite, on constate alors un développement très rapide des installations de refroidissement : le cas est particulièrement net dans deux départements, l'Yonne et la Sarthe, qui jouent en la matière un rôle pilote.

4. — Conclusions

A la fin d'un tel exposé, il serait logique de brosser un tableau d'avenir. Ce serait peut-être un peu ambitieux. Il est plus utile d'essayer d'insister sur les méthodes à employer pour généraliser le refroidissement du lait à la production.

Il semble, en premier lieu, qu'il faille convaincre les dirigeants des coopératives ou les industriels laitiers de l'intérêt du paiement du lait à la qualité. A cet égard, des « séminaires » ont été organisés depuis plus d'un an, qui donnent de très bons résultats ; c'est qu'en effet le mouvement doit être donné par l'industriel ou la coopérative, qui pourra utilement conseiller le producteur pour le choix de son appareil, qui pourra même grouper des commandes, organiser l'entretien, et surtout accorder des primes de qualité.

Ce devrait être le premier pas à faire et des efforts systématiques sont entrepris dans ce sens. Mais en définitive, pour que le refroidissement puisse être généralisé, il faudrait que le lait soit payé obligatoirement en fonction de sa qualité bactériologique, comme il l'est aujourd'hui en fonction de la matière grasse. C'est à ce prix et à ce prix seulement que la qualité du lait sera satisfaisante : il existe aujourd'hui assez d'expériences pour que ce mode de paiement soit rendu obligatoire, pour le plus grand bien de tous ceux qui consomment du lait, et en tout premier lieu de ceux à qui nous sommes le plus tendrement attachés, nos propres enfants.

BIBLIOGRAPHIE

Anquez M. Le refroidissement du lait à la production. *Revue Générale du Froid*, Mars 1955.

Id., Le refroidissement du lait à la ferme. *Le Génie Rural*, Juin 1959.

Budge J. J. Manutention aux U.S.A. du lait en vrac. *Refrigeration Journal*, Décembre 1953.

Gac et Schiltz, Les expériences de Verneuil-sur-Indre. *Centre de Recherches et d'Expérimentation de Génie Rural*, 1959.

Koall H. E. Production et conservation du lait dans la petite exploitation, *Die Kälte*, Août 1956.

Lablanchy A. Sur le refroidissement du lait à la ferme. *Revue Pratique du Froid*, Avril 1954.

Lang O. Réfrigération du lait aux lieux de ramassage. *Die Kälte*, Mai 1955.

Leroy Cl. Le ramassage du lait en vrac. *Le Génie Rural*, Décembre 1955.

Meriaux D. L'amélioration de la qualité du lait dans le bassin laitier de Dijon. *Le Génie Rural*, Février 1954.

Mocquot. Compte-rendu du Séminaire sur l'amélioration de la qualité du lait. *Séminaire de Loches*, Octobre 1959.

Petitjean M. Expérience de refroidissement du lait en Côte d'Or. *Le Génie Rural*, Septembre 1956.

Woodruff. A. O. Refroidissement du lait en vrac. *Refrigeration Engineering*, Décembre 1952.

Perigaud J. La réfrigération du lait à la ferme. *Revue Générale du Froid*, Août 1953.

Résumé

Bien que le refroidissement du lait à la production ne soit pas encore généralisé en France, de nombreuses expériences ont été entreprises pour comparer les diverses méthodes de refroidissement, au point de vue technique et économique. Des essais systématiques ont notamment été menés, en 1958 et en 1959, dans une coopérative de Touraine, à Verneuil-sur-Indre (Indre & Loire).

Les caractéristiques techniques des systèmes utilisés sont indiquées (immersion, aspersion, ruissellement, congélation partielle du lait, utilisation de la glace hydrique) ; les résultats obtenus sont analysés, de même que les avantages et les inconvénients de chaque méthode. L'analyse du coût du refroidissement (amortissements et charges d'exploitation) est ensuite donnée. L'auteur insiste sur les données psychologiques du problème, notamment sur l'intérêt des solutions « mixtes » qui permettent à la fois de refroidir le lait et de conserver les denrées consommées à la ferme ; de même que sur le rôle que peuvent jouer les sociétés laitières, coopératives ou industrielles.

On en déduit les types d'appareils qui sont le mieux adaptés aux différentes catégories de fermes françaises, en fonction de la production laitière moyenne. Enfin la communication donne une vue d'ensemble des progrès récemment accomplis en France, au stade collectif (centre de groupage) et individuel.

Experiments made in France on the refrigeration of milk at the Farm

Summary

Although the refrigeration of milk at the farm has not yet been generalized in France, many experiments have been made in order to compare the various methods of refrigeration from a technical and economical point of view.

Systematic experiments have been made, in 1958 and in 1959, in a co-operative of Touraine, at Verneuil-sur-Indre (Indre & Loire).

The technical characteristics of the applied systems (immersion, aspersion, surface cooling, part-congelation of the milk, utilization of hydric-ice) are mentioned in this paper ; the obtained results as well as the advantages and disadvantages of each method are examined. The costs of refrigeration (amortisation and working-expenses) are then enumerated. The author insists upon the psychological side of the problem and he especially draws the attention upon the possibility of « combined » solutions which consist in refrigerating milk and in preserving at the same time victuals consumed at the farm. He also stresses the important part that can be played in this matter by co-operative and industrial milk-societies.

On the basis of these data the author infers which types of apparatus are best adapted to the different categories of French farms taking into account the average production. He finally gives a survey of the progress recently made in France both on the collective (grouping-centre and on the individual level.

Die Französischen Experimente bezuglich der Abkühlung der Milch auf dem Hof

ZUSAMMENFASSUNG

Obwohl die Abkühlung der Milch auf dem Hof in Frankreich noch nicht verallgemeinert worden ist, sind schon zahlreiche Experimente unternommen worden mit der Absicht die verschiedenen Abkühlungsmethoden von einem technischen und ökonomischen Standpunkt zu vergleichen. Systematische Experimente sind nämlich in 1958 und 1959 gemacht worden in einer Molkerei-Genossenschaft von Touraine, in Verneuil-sur-Indre (Indre & Loire).

Die technischen Charachteristiken der verwendeten Verfahren (Untertauchung, Berieseling, Oberpläche-Kühlung, teilweisiges Erfrieren der Milch, Benützen von Eis) wurden untersucht. Die Ergebnisse sowie die Vor- und Nachteile jeder Methode werden analysiert. Die Abkühlungskosten (Abschreibungen und Betriebskosten) werden untersucht. Der Berichterstatter betont besonders die psychologische Seite des Problems wo er hinweist auf die Nutz der kombinierten Lösungen welche zugleicherzeit die Abkühlung der Milch und das Bewahren sicherer Speisen möglich machen. Hier könnten die Milchgenossenschaften oder die industriellen Betriebe eine wichtige Rolle spielen.

Aus den obengenannten Angaben wird durch den Autor gefolgert welche Typen von Apparaten für die verschiedenen Kategorien französischen Bauernhöfe als die meist geeignete betrachtet werden müssen mit Rücksicht auf ihre Durchschnittsproduktion. Der Bericht enthält schliesslich eine Übersicht der Fortschritte welche letztlich in Frankreich auf den kollektiven (Sammelstellen) und individuellen Plan gemacht wurden.

Considérations microbiologiques sur le refroidissement du lait à la ferme et déductions pratiques à en tirer

par E. Piraux et R. Lacrosse
Directeur et Assistant à la Station laitière de l'État, Gembloux (Belgique)

Il semble que la « Bulk Collection » puisse, dans les prochaines années, connaître également dans les pays de l'Ouest de l'Europe un grand essor, transformer les conditions de récolte du lait de consommation et répandre ainsi l'utilisation du froid tout au moins chez les gros producteurs.

Est-ce à dire que l'on puisse envisager actuellement dans le cadre d'une politique de lait de qualité, une généralisation de l'utilisation du froid par tous les producteurs de lait de consommation et même par les producteurs de lait destiné à la préparation de produits de transformation ? A notre sens, ce serait là une politique quelque peu audacieuse qui ne pourrait d'ailleurs être envisagée que dans le cadre de mesures parallèles prises par tous les membres du Marché Commun.

En Belgique, l'emploi d'appareils frigorigènes ne s'impose pratiquement que chez les producteurs de lait AA et chez les producteurs-colporteurs de lait A.

Il est difficile de poser d'autres exigences si l'on considère que le recours au froid artificiel vient grever le prix de revient du lait d'une charge supplémentaire estimée par des spécialistes francais (1) à 2,24 centimes français nouveaux par litre, soit 22 centimes belges, et les auteurs de l'étude en question notent d'ailleurs qu'il est financièrement impossible de donner de telles primes au producteur de lait à moins de pouvoir retirer de cette amélioration une plus-value sur la vente, ce qui n'est pas le cas pour le lait de consommation avec la législation actuelle.

Or comme le souligne justement G. Bublot (2) dans une étude sur la crise laitière belge et ses aspects économiques fondamentaux « La rationalisation de la production laitière et *la baisse des coûts de production* nous paraissent devoir constituer en longue période, le seul remède vraiment efficace à la crise laitière ».

Nous constatons d'ailleurs dans la plupart des grands pays laitiers qui sont nos voisins, une répugnance à poser de plus grandes exigences en matière d'utilisation du froid par les producteurs. Lors du Congrès International de Laiterie de Londres, notre collègue Monsieur le Pro-

fesseur De Vleeschauwer (3) a posé nettement la question « Est-ce que le lait avant livraison par le producteur à la laiterie doit être refroidi et, si oui, est-ce que la température à la livraison doit être contrôlée » ? ce qui a provoqué de la part d'une compétence anglaise, M. G. R. Morgan (4), la mise au point suivante : « In England and Wales, the Milk and Dairies Regulations require that milk producers shall cool the milk to within 5°F of the water supply used for cooling » ce qui indique nettement la volonté de s'en tenir au simple refroidissement à l'eau.

Dans ces conditions, il nous a paru nécessaire de réexaminer les bases microbiologiques de la réfrigération du lait à la ferme pour préciser à nouveau les exigences que l'on peut raisonnablement formuler vis-à-vis des producteurs de lait de qualité compte tenu des considérations qui précèdent, et également vis-à-vis des constructeurs d'appareils frigorigènes.

Évolution de la charge en germes dans les laits crus

Les principaux facteurs régissant l'évolution de la charge en germes dans les laits crus sont :

1) les propriétés bactéricides du lait ;
2) la température et la durée de conservation ;
3) le degré de contamination.

1. Propriétés bactéricides

Le pouvoir bactéricide du lait nous a intéressés davantage dans ses modalités d'action que dans ses constituants.

Nous nous contenterons de rappeler tout spécialement dans ce dernier domaine les travaux notamment de l'école française (5) : le pouvoir bactéricide dû aux lacténines L_1 et L_2, cette dernière s'identifiant peut-être avec la lactoperoxydase.

La teneur en lacténine varie fortement suivant les laits.

L'action de la lacténine dure plus longtemps à basse température.

Cette action s'exerce tout particulièrement sur certaines espèces de germes à l'exclusion d'autres très peu sensibles.

2. Température et durée de conservation

Lorsqu'on abandonne une cruche de lait de vingt litres au refroidissement spontané à une température ambiante de 20°C, le refroidissement ne s'opère que lentement et sur ce lait, Macy (6) a fait les observations suivantes :

Moyenne de 24 essais effectués dans les conditions normales de l'été. Incubation : 48 h. à 37°C.

Nombre de bactéries par ml. après :

	Lait frais	1 h.	2 h.	3 h.	4 h.	5 h.
	33,5° C	29° C	27,7° C	27° C	26,5° C	26° C
Coefficient de	247.000	233.000	365.000	869.000	1.529.000	2.789.000
multiplication		0,94	1,48	3,52	6,19	11,29

La température et la durée de conservation sont incontestablement les principaux facteurs conditionnant la multiplication des germes dans le lait.

Dans le lait stocké à 0°C, la multiplication des germes continue à un rythme très faible. Après un certain nombre de jours, il y a apparition de goûts anormaux.

Aux basses températures (en-dessous de 10°C), ce sont les bactéries psychrophiles et notamment les *Pseudomonas* qui se multiplient.

Dans le lait refroidi à 5°C, le nombre de bactéries n'augmente pas au cours des cinq premières heures ; entre 5 et 10°C, le développement est assez lent ; entre 10 et 15°C, la multiplication s'opère assez rapidement et au-delà de 15°C, rapidement, du moins si l'on considère un laps de temps de l'ordre de 24 heures au moins.

Le Dr POSTHUMUS (7) analyse le cas suivant d'un lait tiré de la cruche tenu à différentes températures pendant divers laps de temps.

T°	direct	après 3 h.	après 6 h.	après 9 h.	après 13 h.
10°C	15.800	17.500	19.500	15.300	17.500
13° C	16.600	15.200	24.300	41.000	152.000
15° C	16.400	14.600	30.900	67.000	355.000
20° C	15.900	88.000	114.000	1.660.000	14.000.000
25° C	16.900	143.000	421.000	7.600.000	135.000.000

alors que le lait prélevé directement au pis donnait les résultats suivants :

T°	direct	après 3 h.	après 6 h.	après 9 h.	après 13 h.
10° C	3.600	3.800	2.400	3.700	7.800
13° C	5.100	3.200	2.600	1.700	3.300
15° C	5.000	3.300	1.300	6.000	5.000
20° C	3.700	3.300	2.200	2.000	—
25° C	3.900	2.500	2.000	2.500	60.000

Le Dr H. S. Hall (8) dresse également le tableau ci-après de l'évolution de la charge en germes dans trois types de lait tenus aux températures indiquées pendant 22 heures et met en parallèle l'évolution de l'aptitude à la conservation.

Nous nous contenterons de constater ici l'évolution respective dans chaque type de lait quitte, en comparant cette évolution dans les trois types, à souligner l'action d'un autre facteur qui va être évoquée dans la suite :

Température de conservat.	Échantillon A (récolte avec beaucoup de soins)		Échantillon B (conditions moyennes de récolte)		Échantillon C (mauvaises conditions de récolte)	
	Nombre à 30° C.	Conservation 18° C. en heures	Nombre à 30° C.	Conservation 18° C. en heures	Nombre à 30° C.	Conservation 18° C. en heures
4° C.	1.900	46	41.000	38	270.000	24
10° C.	1.720	44	48.000	34	740.000	20
15° C.	15.600	40	110.000	26	17.000.000	8
18° C.	500.000	26	2.420.000	18	58.000.000	4
21° C.	700.000	22	16.600.000	6	200.000.000	acide

3. — Degré de contamination du lait

Le troisième facteur dont nous nous attacherons à souligner l'importance parce qu'elle est généralement méconnue, c'est le degré de contamination du lait suite à des conditions de récolte défectueuses, et nous soulignons notamment le mauvais entretien de la vaisselle laitière.

Le tableau cité plus haut en provenance de H. S. Hall (8) fait déjà ressortir l'importance de ce facteur, en soulignant qu'un lait à faible charge en germes tenu 22 h. à 21° C peut être encore aussi bon qu'un lait récolté dans des conditions défectueuses et tenu pendant le même laps de temps à 10° C, et dans une autre étude le même expérimentateur (9) met à nouveau l'accent sur cette constatation.

Plusieurs auteurs notamment Marth E. H. et Frazier W. C. (10) soulignent notamment à cet égard qu'on pourrait considérer que l'accélération de multiplication se marque dès qu'on atteint environ 50.000 germes par ml.

Hammer (11) souligne également l'influence du degré de contamination dans le tableau ci-après :

Laits à faible charge microbienne

(moyenne de 16 échantillons)
Nombre germes origine : 3.242/ml

Température conservation	Après 12 heures		Après 24 heures	
	germes/ml	taux multiplic.	germes/ml	taux multiplic.
15° C.	4.056	1,25	123.562	38,1
21,1° C.	19.312	5,95	10.006.875	308,5

Laits à forte charge microbienne

(moyenne de 13 échantillons)
Nombre germes origine : 707.761/ml

Température conservation	Après 12 heures		Après 24 heures	
	germes/ml	taux multiplic.	germes/ml	taux multiplic.
15,6° C.	3.376.961	4,77	48.550.923	68,6
21,1° C.	6.608.846	9,33	221.916.666	313,4

Ce phénomène s'explique d'ailleurs par la différence de flore entre ces types de lait. Les laits peu chargés renferment une proportion plus élevée de germes en provenance de la mamelle dont l'optimum de croissance se situe aux environs de 30° C, tandis que les laits fort chargés renferment surtout des germes de contamination extérieure dont l'optimum de croissance se situe à température inférieure soit vers 25° C.

Springstead (12) souligne également que la qualité du lait est en rapport avec les méthodes de nettoyage et de désinfection des installations laitières à la ferme plutôt qu'avec la température à laquelle le lait est initialement refroidi.

Thomas *et al.* (13) notent également que lorsque la stérilisation du matériel de récolte de lait laisse à désirer, des fournitures de lait bien refroidies n'ont pas une charge en thermorésistants moindre que des fournitures mal refroidies.

Enfin, Portmann (14) comparant les influences respectives de la propreté des ustensiles et du refroidissement après la traite sur la qualité bactériologique des laits crus dit : « On a souvent tendance à surestimer les avantages que présente l'utilisation du froid artificiel, en oubliant que la qualité bactériologique du lait dépend avant tout des soins apportés à sa récolte : le froid n'améliore pas la qualité bactério-

logique du lait, il ne fait que la conserver, et cet expérimentateur, tire de ses constatations la conclusion ci-après : « On obtient le maximum d'efficacité avec le minimum de frais en refroidissant le lait à une température moyennement basse à condition d'éviter au maximum la contamination au moment de la traite.

Il est difficile de préconiser une température de refroidissement optima : celle-ci devra varier en fonction de la qualité bactériologique initiale du lait et en fonction de la qualité finale à obtenir au moment où le lait arrive à la laiterie : moins le lait sera pollué à la récolte, moins il sera nécessaire d'abaisser sa température en-dessous de 15° C».

Essais effectués à la Station laitière

Portmann dans ses conclusions pose de façon claire le problème de l'utilisation du froid chez le producteur de lait dans les conditions actuelles : le froid est un mal nécessaire ; il ne faut pas y recourir sans discernement, mais il faut étudier les conditions d'un emploi rationnel et économique. Ce n'est d'ailleurs qu'ainsi que nous pourrons développer l'utilisation du froid en comprimant le coût de celui-ci et en y intéressant de plus larges couches de producteurs.

Nous nous sommes donc attachés à revoir le problème dans le cadre des conditions où il se présente pour un producteur livrant à la laiterie : livraison de lait du soir et de lait du matin ; refroidissement spontané, refroidissement à l'eau, refroidissement au froid artificiel.

Nous avons pour cela prélevé pendant un mois dans une exploitation voisine, des échantillons de lait en provenance d'un certain nombre de vaches. Le prélèvement était fait chaque jour sur des animaux différents, le pouvoir bactéricide pouvant varier d'un individu à l'autre. Ces laits étaient exempts de traces d'antibiotiques et de traces de désinfectants.

La traite était effectuée avec un minimum de soins d'asepsie, mais sans luxe de précautions.

Le tableau ci-après reproduit les moyennes des résultats enregistrés au cours de ces essais et le graphique donne l'allure des variations de taux de multiplication des germes.

De l'ensemble de ces essais, il apparaît que la température de 17° C est suffisante pour conserver des laits crus de bonne qualité pendant 10 heures et qu'en tout cas, endéans 4 à 7 heures, il n'y a pas de variations très sensibles du taux de multiplication des germes.

A 13° C le nombre de germes ne varie pas sensiblement endéans les 10 heures et on peut envisager, dans les cas favorables, des durées de conservation allant jusque 24 heures.

Nombres moyens de germes par catégories

Germes Classes	Nombre d'essais	2h 17°	4h 17°	7h 17°	10h 17°	10h 13°	24h 13°
< 10.000							
Moy. : 5.660	5	5,340	5.720	6.640	8.680	5.520	6.940
Taux de multiplication		0,94	1,01	1,17	1,53	0,97	1,22
Réductase : 11h. 1/4		11h.10'	10h.55'	10h.30'			10h.15'
10.000 à 50.000							
Moy. : 32.440	9	35.610	36.160	55.280	65.040	39.710	168.930
Taux de multiplication		1,10	1,11	1,70	2,00	1,22	5,19
Réductase : 8h.		8h.06'	7h.25'	6h.55'			5h.20'
50 à 100.000	3	92.060	102.000	239.000	570.030	107.200	999.000
Moy. 80.960							
Taux de multiplication		1,14	1,26	2,95	7,04	1,32	12,34
Réductase : 6h.35'		6h.15'	5h.45'	5h.10'			2h.
100.000 à 200.000							
Moy. 148.000	3	133.300	150.000	207.000	328.600	149.000	1.229.000
Taux de multiplication		0,90	1,01	1,40	2,22	1,01	8,30
Réductase : 6h.05'		6h.00	5h.35'	5h.25'			2h.50'

Comparaison entre la conservation à 17° C. pendant 4 h. et le refroidissement spontané dans une ambiance à + 20° C.

Moyenne	8	17° C	+ 20° C
9.725		48.875	56.160
4		0,98	1,13

Conclusions pratiques

1) Le lait de la traite du matin ne séjournera à la ferme que quatre heures au maximum, tandis que le lait de la traite du soir restera à la ferme pendant 13 à 17 heures avant d'être traité à l'atelier de pasteurisation.

Pour le lait de la traite du matin, on pourrait donc se contenter à la rigueur de refroidir à l'eau pour autant que l'on veille aux soins d'hygiène du lait.

Pour le lait de la traite du soir, le refroidissement à l'eau peut suffire en hiver. En été, on sera souvent contraint de recourir au froid artificiel, du moins en matière de lait de consommation.

C'est d'ailleurs à des constatations un peu de cet ordre qu'avaient abouti KELLERMANN et WAUSCHKUHN (15) en examinant les problèmes bactériologiques qui se posent lors de l'usage d'un système combiné de traite et de récolte du lait : pourvu que l'équipement soit nettoyé convenablement et stérilisé et que le lait soit refroidi à la laiterie endéans les deux heures après le début de la traite, le refroidissement à la ferme peut être omis en hiver ; en été, un refroidissement à 15° convient.

Évidemment, dans le cas où les laits ne sont pas récoltés le dimanche, le séjour peut aller jusque 41 heures et dès lors, une seule solution est à retenir : le refroidissement à 4° C.

2) Pour l'octroi des subsides, on exige en Belgique, comme capacité des appareils frigorifiques, que le lait soit refroidi en-dessous de 10° C en 1 heure ce qui revient à dire que le lait doit être ramené en-dessous de 10°, 2 heures après la traite.

A voir le taux de multiplication atteint en 4 h. à 17° et le taux de multiplication en refroidissement spontané, on peut dire que cette exigence est assez poussée et qu'on pourrait parfaitement s'accommoder d'un refroidissement en 2 heures si cela peut cadrer avec les exigences du travail, notamment avec le temps dont on dispose le matin entre la traite et le passage du camion de récolte. Ce serait un moyen d'abaisser dans une certaine mesure le prix de revient.

3) Enfin, pour les laits industriels où les considérations de prix de revient doivent être encore plus impératives, il est difficile actuellement d'exiger un refroidissement idéal. Pour ces laits et surtout les crèmes fermières, le problème du conditionnement devra être repensé.

BIBLIOGRAPHIE

1. Centre d'Information du Froid. L'amélioration de la qualité du lait par l'utilisation du froid à la ferme. *La Technique laitière*, **299**, 10/5/60, p. 11.
2. Bublot G., La Crise laitière belge. Aspects économiques fondamentaux. *Agricultura* VVI, 2e série, p. 403, 1958.
3. 4. XVe Congrès International de Laiterie. Londres 1959, V. 5, p. 353.
5. Portmann A., et J. E. Auclair. Relation entre la lacténine L_2 et la lactoperoxydase. *Le Lait*, mars-avril 1959, p. 147.
6. Macy H., The care of morning milking before Pasteurisation. *Journal of Dairy Science*. 1922, p. 503.
7. Posthumus G., Grondslagen van het bacteriologisch onderzoek voor de zuivelfabriek. *Koninklijke Nederl. zuivelbond*. 1954, p. 58.
8. Hall H. S., Refrigerated cooling on the farm. *XIII Internat. Dairy Congress*. The Hague 1953, II, p. 129.
9. Hall H. S., The relative importance of sterilization and cooling. Farm. Mech. 3 (2) 170-71-1949. *Ref. Dairy Science Abst.* 12-3-1950, p. 228.
10. Marth H. and Frazier W. C., Bacteriology of milk held at farm bulk cooling temperatures. J. Milk Fd Tech. 20 (3) 79-83 (1957). *Ref. Dairy Sc. Abst.* 19-10, p. 844.
11. Hammer, Growth of bacteria in milk and cream. *Dairy Bacteriology*, p. 199.
12. Springstead, Milk cooling as you find it. J. Milk Food Tech. 15-4-189/192 (1952). *Ref. Dairy Sc. Abstr.* 1953-15, p. 401.
13. Thomas S. B., Griffith D. G., Ellison D., Davies E., Charlton J. A., Jones R. G. Heat resistant bacteria raw milk. *J. Soc. Dairy Tech.* 4 (11) 245-50 (1951). *Ref. Dairy Sc. Abst.* 1951, 13-485.
14. Portmann, Influences respectives de la propreté des ustensiles et du refroidissement après la traite sur la qualité bactériologique du lait cru. *Le Lait*, mars-avril 1955, n° 343-44, p. 132.
15. Kellermann R. et Wauschkuhn B., Bacteriologische Fragen bei der Milchgewinnung mit Melktrupps. *Die Molkereizeitung Hildesheim*, 14, 4-4, 405-06. 1957.

Résumé

Les auteurs examinent le comportement de laits fraîchement traits, prélevés directement à la ferme et dont l'évolution est suivie au laboratoire à diverses températures, en vue d'établir les conditions requises pour obtenir un refroidissement efficace et suffisant des laits.

Il est démontré qu'il faut amener le lait à 10° C. ou en-dessous pour entraver toute multiplication sérieuse du nombre des bactéries en 48 ou en 72 heures.

Des laits à faible charge microbienne peuvent cependant se conserver à des températures plus élevées pendant un laps de temps relativement limité.

C'est ainsi qu'aux températures de 13° C et même de 17° C on n'enregistre pour de tels laits, après 10 heures de conservation, qu'un faible accroissement du nombre de germes et que la chose est même encore vraie après 24 heures de conservation pour des laits à charge initiale vraiment faible, tenus à 13° C.

Dans le lait refroidi spontanément, la température ambiante étant d'environ 20° C, il y a augmentation sensible du nombre de bactéries après 3 ou 4 heures.

Les auteurs tirent de ces observations des déductions pratiques quant au mode de refroidissement à envisager dans divers cas et quant aux exigences à poser en matière de puissance des appareils frigorifiques.

Microbiological considerations on the refrigeration of milk at the farm and practical deductions to be made

SUMMARY

The authors examine the behaviour of freshly produced milk, directly sampled at the farm and of which the evolution is followed in the laboratory at various temperatures in order to establish the conditions for an efficient and sufficient refrigeration.

It is proved that milk should be cooled at 10° C or at a lower temperature if hampering is wanted of a serious bacterial multiplication within 48 or 72 hours.

Milk with a low bacterial charge may be kept at higher temperatures during a relatively short space of time. The increase of the number of bacteria in such milk, kept during 10 hours at temperatures of 13° C or even 17° C is not important. This is also the case for milk with a really low charge of bacteria kept during 24 hours at 13° C.

In spontaneous cooled milk kept at a room-temperature of approximatively 20° C, the multiplication of bacteria is already important after 3 or 4 hours.

With this experimental background the authors make practical deductions with regard to the way of refrigerating milk in the different cases to be considered, and also with regard to the refrigerating power of the apparatus involved.

Mikrobiologische Betrachtungen in Zusammenhang mit der Abkühlung der Milch auf dem Hof and praktische Beschlusse

ZUSAMMENFASSUNG

Die Autoren untersuchen das Betragen mehrerer Muster frisch gemolkene Milch welche direkt auf dem Hof genommen wurden. Die Evolution dieser Muster wurde gefolgt im Laboratorium an verschiedene Temperaturen mit der Absicht die Bedingungen zu ermitteln welch eine zweckmässige und genügende Abkühlung erfordern.

Die Berichterstatter beweisen dass die Milch bis zu 10° C oder noch niedrigere Temperaturen gekühlt werden muss wenn man sich gegen eine wichtige Vervielfältigung der Bakterien in dem folgende 48 oder 72 Stunden, widersetzen will.

Die Milchmuster mit niedrigem Bakteriengehalt können dann noch während verhältnismässig kürzer Zeit bewahren an höhere Temperaturen. Für diese Milchmuster bewahrt an 13° C und eben an 17° C war die Vervielfältigung der Bakterien nach 10 Stunden, noch ziemlich gering. Das war selbst noch der Fall nach 24 Stunden, mit solcher Milch bewahrt an 13° C.

In an Zimmertemperatur gekülter Milch, das heisst an eine Temperatur von 20° C, gibt es schon eine Vervielfältigung der Bakterien nach 3 oder 4 Stunden.

Aus diesen Experimenten ziehen die Berichterstatter Schlüsse mit Rücksicht auf die an zu wenden Abkühlungsmethoden und die Kraft der zu benutzen Abkühlungsapparate.

La réfrigération du lait à la ferme en Belgique

par K. L. Devriendt
Dr. sc., Directeur de l'Office National du Lait et de ses Dérivés, Bruxelles (Belgique)

Pour comprendre toute l'importance et saisir toutes les données de ce problème technique, il est nécessaire de le situer dans son cadre économique. Les facteurs qui conditionnent le progrès de la réfrigération du lait en Belgique ne sont, en effet, pas seulement d'ordre technique mais également d'ordre économique.

1. Données économiques du problème

En 1959, la production laitière provenant de 1.011.105 vaches a été évaluée à 3.639.987.000 litres de lait à 3,34 % de matière grasse.

De cette production globale 8,38 % furent consommés par les animaux et 91,62 % par l'homme et ce, sous forme de lait en nature, ou de dérivés laitiers, dont 63,35 % de beurre.

De cette même production globale 50,42 % ont été livrés aux laiteries agréées dont 36,30 % sous forme de lait et 14,12 % sous forme de crème.

Les quantités de lait et de crème réceptionnées par les laiteries furent destinées aux fabrications suivantes :

Tableau 1

lait de consommation	: 22,62 %
beurre	: 65,34 %
fromages	: 4,01 %
poudre de lait entier	: 2,13 %
laits concentrés	: 2,89 %
yoghourt et lait chocolaté	: 0,33 %
crème de consommation	: 2,73 %

On peut en déduire que la valorisation du lait en Belgique dépend surtout de la consommation du beurre dont la fabrication absorbe à peu près les deux tiers du lait produit. Toute augmentation de la production laitière se traduit par une augmentation de la production de beurre. Toute diminution de la consommation de beurre a des réper-

cussions sur la valorisation du lait. Or, il se fait qu'entre 1950 et 1959 la production laitière a passé de 3.088.015 tonnes à 3.639.978 tonnes. Pendant cette même période, la consommation de beurre a diminué de 96.420 tonnes à 88.078 tonnes. Il est donc nécessaire pour la Belgique de trouver un nouvel exutoire pour ses disponibilités grandissantes de lait.

Nous importons encore chaque année quelque 34.000 tonnes de fromage. La fabrication de toute cette quantité par notre propre industrie valoriserait la production du lait de 100.000 vaches. La consommation de lait en Belgique est de 264 ml par habitant et par jour. Le niveau physiologique moyen de la consommation journalière a été évalué à 519 ml. Si la consommation de lait du Belge s'établissait à ce niveau, l'économie laitière du pays y trouverait une possibilité de valorisation du lait de 250.000 vaches.

En tenant compte de l'incidence sur notre économie laitière de certaines circonstances d'ordre national et international, le département de l'Agriculture a estimé que l'augmentation de la consommation du lait était de nature à donner le plus de garanties quant à l'évolution favorable à l'avenir de cette branche la plus importante de notre économie agraire.

Faire augmenter la consommation du lait est une question de propagande et une question de qualité. Parmi les éléments qui conditionnent la qualité du lait à la consommation, il est reconnu depuis longtemps que la qualité bactériologique et biochimique du lait cru joue un rôle prépondérant. Cette qualité dépend elle-même pour une grande partie de la propreté et de la réfrigération du lait.

2. Incidence de la réfrigération sur la qualité du lait cru en Belgique

Nous n'avons pas à nous occuper ici de la propreté du lait, sinon que pour dire que si la propreté et la réfrigération du lait sont inséparables dans la production d'un lait de bonne qualité, il appert que dans les conditions dans lequelles le fermier travaille actuellement en Belgique, le rôle de la réfrigération du lait à la ferme semble décisif.

Pour étayer cette position nous devons signaler le cas du lait A. Celui-ci est produit dans des conditions strictes d'hygiène et de propreté à la ferme avant de passer dans un circuit spécial à la laiterie. Les vaches doivent être indemnes de tuberculose et de brucellose. Les étables qui abritent ces vaches doivent répondre à des conditions précises. Le lait doit avoir été récolté, manipulé et conservé dans des conditions aseptiques. Le lait cru doit avoir une acidité comprise

entre 15° et 19°D, satisfaire à des conditions de propreté déterminées et à l'épreuve au bleu de méthylène comportant les normes suivantes :

Tableau 2

Points	Température extérieure de — de 15° C	Température extérieure de 15 à 20° C	Température extérieure de + de 20° C	Qualification
5	+ 5 h	+ 4 h	+ 3 h	très bon
4	+ 4 h	+ 3 h	+ 2 h	bon
3	+ 3 h	+ 2 h	+ 1 h	assez bon
2	+ 2 h	+ 1 h	+ 30'	moins bon
1	+ 1 h	+ 30'	— 20'	médiocre

Pour l'exécution de l'épreuve de la réductase, la température extérieure est fixée à 10 h. du matin à l'ombre. L'épreuve elle-même est exécutée d'après la méthode officielle du Département de l'Agriculture. Le producteur ayant obtenu trois fois consécutivement moins de 3 points ou deux fois consécutivement 1 point est déclasssé. Pour être réadmis, il faut obtenir trois fois consécutivement 3 points ou deux fois consécutivement 5 points.

Le tableau suivant donne le mouvement des agréations et des retraits d'agréation pour l'ensemble du pays en 1959, par rapport au nombre total de fournisseurs de lait A et aux différents mois de l'année. La température moyenne de chaque mois est donnée à titre indicatif.

Tableau 3

	Nombre d'agréations	Nombre de retraits d'agréation	Nombre de fournisseurs fin du mois	Température moyenne du mois
Janvier	110	15	1.499	1,9° C
Février	77	15	1.561	1,8° C
Mars	69	29	1.601	8,0° C
Avril	46	30	1.617	10,5° C
Mai	48	42	1.623	14,2° C
Juin	62	89	1.596	16,8° C
Juillet	30	117	1.509	19,8° C
Août	45	159	1.395	18,1° C
Septembre	89	103	1.381	16,2° C
Octobre	162	24	1.599	11,9° C
Novembre	144	9	1.654	5,9° C
Décembre	108	12	1.750	5,1° C

Dès le mois de juin, le nombre de retraits dépasse donc le nombre d'agréations et dès le mois d'octobre, le phénomène inverse se produit. En rapprochant cette évolution des niveaux de température enregistrés au cours des différents mois, l'importance de la température extérieure saute aux yeux et donc de la température de conservation du lait.

3. Déficience de la réfrigération du lait cru en Belgique

Pour saisir exactement la portée de ce phénomène il y a lieu de faire les remarques suivantes.

Il est certain que de multiples expériences ont prouvé que de bonnes conditions hygiéniques et de propreté en ce qui concerne la vache, l'étable, la traite, la manipulation du lait sont absolument indispensables si l'on veut obtenir du lait dont la teneur en germes soit pauvre à l'origine et qui puisse se conserver convenablement jusqu'au moment de la pasteurisation. Mais dans le cas qui nous occupe, il est indéniable que ces conditions sont plus favorables en été qu'en hiver. La cause du grand nombre de retraits d'agréation en été doit donc se trouver autre part. Il est de même rigoureusement nécessaire que tout le matériel employé pour la récolte et le transport du lait, que toute surface entrant en contact avec le lait depuis la traite jusqu'à la réception à la laiterie, soit nettoyé après et désinfecté avant usage. Il n'y a pas de raison pour que cela se fasse avec moins de soins en été qu'en hiver et le contrôle opéré régulièrement par des agents d'inspection n'a pas révélé d'anomalie flagrante à ce sujet. Donc là non plus ne peut se trouver la cause du grand nombre de retraits d'agréation. Que pourrait alors être le facteur déterminant de la détérioration bactériologique du lait employé sinon que la réfrigération défectueuse de ce lait en été, qui après la traite et au cours du transport n'a pas atteint une température suffisamment basse pour empêcher la multiplication bactérienne.

Si nous essayons d'approfondir et de fixer ce phénomène, nous devons nous arrêter un moment aux systèmes de réfrigération et de transport employés en Belgique.

En été beaucoup de fermes réfrigèrent le lait mais les moyens employés sont souvent insuffisants. Les systèmes sont nombreux : aspersion à l'eau fraîche par tourniquets hydrauliques posés sur les bidons, ruissellement sur échangeur thermique, immersion des bidons dans des bacs contenant de l'eau plus ou moins froide. C'est surtout cette dernière méthode qui est en honneur. L'emploi du froid artificiel sous quelques forme que ce soit — frigo, eau glacée, glace — est plutôt une exception encore qu'obligatoire pour la production du lait en

marque de contrôle AA. Ce que le système par immersion a de décevant, c'est qu'il est souvent inopérant en été, même si on prend toutes les précautions possibles pour faire circuler l'eau et pour agiter le lait. Son efficacité dépend en effet essentiellement de la température de l'eau employée et celle-ci dépasse facilement en été, même s'il s'agit de l'eau de distribution, les 15 degrés. Les appareils les plus perfectionnés travaillant avec une telle eau ne pourront réaliser au sein de la masse du lait contenue dans les bidons qu'une température dépassant de 2 à 3 degrés celle de l'eau employée, donc 18° par les fortes chaleurs d'été, ce qui est notoirement insuffisant.

Encore si la récolte du lait pouvait se faire deux fois par jour à cette température et si le lait pouvait être acheminé vers la laiterie au cours de sa période bactériostatique, il n'y aurait pas de problème. En effet, il semble maintenant acquis qu'avec un refroidissement de 18 à 20° immédiatement après la traite, il est possible de maintenir pendant 3 heures à peu près la teneur en germes à son niveau initial. Mais avec les conditions qui prévalent dans notre pays, le double ramassage journalier, qui rendrait possible la récolte bactériostatique, ne semble pas réalisable dans un avenir rapproché.

Pour comprendre cette situation, remarquons tout d'abord que ce double ramassage n'exclut pas le refroidissement du lait. Dans le lait non refroidi, la multiplication des germes se produit presqu'aussitôt après la traite et il n'y a pas de période de diminution ou de stagnation dans le nombre de germes. Pour cela, il faut refroidir à 18-20° immédiatement après la traite, comme l'ont montré les derniers travaux de Seeleman (1) et Götze (2). La notion de période bactériostatique est donc malgré tout liée à une pratique de refroidissement du lait. Il faut savoir également qu'en Belgique, les rayons de ramassage du lait ne sont pas délimités, ni par voie d'accord entre les laiteries, ni par voie d'obligation imposée par le Gouvernement. Comme la dispersion des laiteries n'est guère uniforme et leur importance très variable et qu'elles se font une concurrence très vive, il n'est pas rare de voir plusieurs laiteries récolter dans un même rayon, et parfois à des distances considérables du point de départ. Il n'est donc pas étonnant de constater que les frais de ramassage sont en moyenne élevés et que chacun est dans l'obligation de chercher à les diminuer, entre autres en limitant le nombre de tournées et diminuant la fréquence des ramassages. Dès lors l'influence de la période bactériostatique ne joue pas, au moins pour les laits du soir, tout comme la réfrigération par eau courante n'a que peu d'effet pendant les périodes de fortes chaleurs.

4. Nécessité de la réfrigération du lait cru à basse température

La solution à envisager pour résoudre le problème de la qualité bactériologique du lait à la ferme semble résider dans une généralisation de la réfrigération mécanique du lait, de façon qu'au départ de la ferme la température du lait n'atteigne pas 10°, ou mieux qu'au moment de la mise en tank à la laiterie cette température ne soit pas dépassée.

L'importance de cette basse température de réfrigération est connue et a provoqué des prises de position très nettes dans la pratique. En France, Anquez (3) a fixé à 10° la température à laquelle il estimait nécessaire de refroidir endéans les 2 heures les laits destinés à la laiterie. Dernièrement, en Allemagne dans le cadre d'une étude sur le « Melk-Express-Verfahren », Seeleman (1) et Götze (2) examinant le pouvoir de conservation du lait en fonction de la température, ont trouvé qu'après 24 heures de conservation, le contenu bactérien augmentait fortement avec la température de conservation. Les rapports entre le contenu bactérien au départ de l'expérience et après 24 h. de conservation étaient les suivants :

Tableau 4

Température de conservation du lait	Taux de multiplication bactérienne
de 5 - 6° C	de 1 à 2,22
de 10 - 12° C	de 1 à 67,6
de 18 - 20° C	de 1 à 333,-
30° C	de 1 à 2141,-

et pour du lait conservé à 37°C pendant 12 heures seulement, de 1 à 1159. Des résultats semblables furent enregistrés avec le test au bleu de méthylène.

Les auteurs de ces expériences étaient partis de lait acheminé par camion-citerne et qui arrivait à la laiterie avant expiration de sa période bactériostatique. Nous pouvons supposer que dans un tel cas la population bactérienne du lait n'avait bas bougé. Les échantillons prélevés de ce lait ont été conservés à 6, 11, 18 et 37° pendant 24 heures, puis incubés à 37° pendant 48 heures. Les résultats obtenus lors de la numération bactérienne permettent de conclure que le lait peut être conservé pendant 24 heures environ en ne subissant qu'une augmentation relativement faible de sa population bactérienne si le lait est refroidi à 5-6° dès son arrivée à la laiterie, et à fortiori si le refroidissement à cette température se fait immédiatement après la traite. Au-

delà le 10° la situation est nettement moins bonne et à 18-20° elle est franchement mauvaise.

Ces constatations ont été corroborées par l'expérience faite dans la pratique et pendant plusieurs années par l'Office National du Lait en Belgique et dont nous donnons les résultats pour l'année 1959. Il s'agit du contrôle de la qualité du lait A et AA. Du point de vue de la population bactérienne et pour autant qu'il s'agisse d'échantillons prélevés à la ferme, ces laits devraient présenter les mêmes caractéristiques s'il n'y avait pas l'influence du facteur réfrigération, puisque toutes les autres conditions de production de ces deux laits sont sensiblement les mêmes. Mais par rapport à la réfrigération, la réglementation prévoit que le lait A livré à la laiterie doit être refroidi immédiatement après la traite à une température ne dépassant pas 15°C, tandis que pour le lait AA la limite supérieure a été fixée à 10°C. Cette différence de traitement a donné des résultats qui montrent toute l'importance du refroidissement à basse température dans la pratique courante.

Le contrôle du lait A pratiqué sur 34.406 échantillons individuels prélevés à la ferme et le contrôle du lait AA pratiqué dans les mêmes conditions sur 4.660 échantillons, a permis de relever les résultats suivants pour l'épreuve de la réductase :

Tableau 5

Type de lait	Très bon	Bon
lait A	64,02 %	74,01 %
lait AA	90,46 %	99,39 %

La catégorie « très bon » correspond à une décoloration du bleu de méthylène intervenant après plus de 5 ½ h. et la catégorie « bon » après plus de 4 heures.

L'influence de la température de réfrigération (minimum de 15° ou 10° suivant qu'il s'agit de lait A ou AA) sur la qualité du lait produit est donc très marquée. Elle le serait encore davantage si pour le lait AA on avait tenu compte de la compensation de la température extérieure.

La différence de qualité constatée entre les deux sortes de lait est d'ailleurs beaucoup plus marquée quand on compare la qualité des laits de mélange prélevés dans le bac de réception à la laiterie. Ici les résultats sont les suivants (pourcentages du nombre d'échantillons prélevés) :

Tableau 6

Type de lait	Germes (-de 500.000 au ml)	Coli (- de 1.000 au ml)	Réductase (+ de 1 h)
lait A	31,46	13,71	63,71
lait AA	93,78	67,43	97,29

On constate donc que la différence de qualité qui existait à l'origine s'est accentuée notablement au cours du transport et lors du mélange dans le bac de réception. Il y a une détérioration sensible de la qualité du lait dans les deux cas et le phénomène s'explique par le fait qu'en Belgique on ne prend que peu de précautions pour maintenir ou diminuer la température du lait lors du transport de la ferme à la laiterie, mais la détérioration est beaucoup plus forte dans le cas du lait A que dans le cas du lait AA qui est refroidi à 10° maximum. Cette situation montre également qu'il y a lieu de refroidir le lait à une température aussi basse que possible à la ferme.

5. **Température de réfrigération souhaitable pour le lait cru**

Les chiffres produits aux derniers tableaux permettent par ailleurs de situer à quel niveau de température il faut descendre pour obtenir une bonne qualité de lait destiné à la transformation et en tout premier lieu à la consommation humaine. En effet, si le contrôle à la ferme du lait A relève 74,01 % de laits bons à l'épreuve de la réductase, il n'en reste pas moins vrai qu'il apparaît du tableau 2 que pendant les mois de mai, juin, juillet, août, septembre 1959, il a fallu retirer l'agréation à 530 producteurs de lait A sur les 1617 qui étaient agréés à fin avril de la même année et cela, pour des raisons de non-conformité du lait A avec les normes fixées. Par contre, le lait AA produit par des fermiers individuels (voir tableau 5) autant que celui examiné dans le bac de réception à la laiterie (voir tableau 6), semblent être de qualité acceptable tout au long de l'année. Un examen plus détaillé de ce dernier lait, matière première du produit préparé pour la consommation, permet d'en juger avec plus de certitude (voir tableau 7).

Pour un lait de grand mélange 74,79 % d'échantillons à moins de 100.000 germes au ml et 77,15 % d'échantillons à plus de 5h ½ de durée de décoloration du bleu de méthylène dénotent une matière première de très bonne qualité générale. La teneur relativement élevée en coli souligne encore une fois un manque de réfrigération, mais cette fois-ci au moment du transport.

Tableau 7

Nombre de germes :	— de 25.000	37,99 %
	— de 50.000	54,25 %
	— de 100.000	74,79 %
	— de 500.000	93,78 %
Nombre de coli	absence	5,81 %
	— de 10	14,33 %
	— de 100	36,81 %
	— de 1000	67,43 %
Réductase	— de 1 h	2,71 %
	— de 2 h	3,87 %
	— de 3 h	0,77 %
	— de 4 h	1,16 %
	— de 5 1 2 h	14,34 %
	— de 8 h	46,53 %
	+ de 8 h ?	30,62 %

Il existe une épreuve contraire de la thèse que nous venons d'avancer par la comparaison du lait cru servant à la préparation du lait A et AA, c'est la comparaison entre le lait cru de mélange destiné au lait A et au lait pasteurisé ordinaire. Ce dernier est produit et collecté sans précautions spéciales sous le rapport de la réfrigération. Sa qualité est encore notablement inférieure à celle de lait A cru, comme l'indique le tableau suivant :

Tableau 8

Type de lait	Germes (- de 500.000 au ml)	Coli (- de 1.000 au ml)	Réductase (+ de 1 h.)
Lait A	31,46 %	13,71 %	63,71 %
lait ordin.	10,45 %	6,32 %	36,65 %

De toutes ces données puisées dans la pratique, il apparaît clairement que pour obtenir un lait satisfaisant aux normes de la bonne qualité bactériologique et biochimique, il est nécessaire dans les conditions ordinaires de production et de récolte prévalant dans notre pays, de le refroidir immédiatement après la traite à une température inférieure à 10°, ce qui implique l'emploi à la ferme et sous une forme ou une autre d'une source de froid artificiel, au moins pendant une grande période de l'année.

L'emploi d'une telle source permettrait d'ailleurs au fermier de refroidir le lait à une température qui tient compte de la pureté du lait après la traite, de la température ambiante, de la durée de con-

servation à la ferme, des conditions de ramassage et de transport. On sait en effet que plus la charge bactérienne initiale est grande, plus grand sera le taux de multiplication en fonction de la température et de la durée de conservation et plus basse devra être la température de réfrigération.

6. **Mesures aptes à promouvoir la généralisation de la réfrigération mécanique**

La mise en œuvre du froid artificiel suppose l'emploi d'un appareillage assez compliqué et relativement coûteux. Or les moyens du fermier belge sont limités eu égard à la structure sociale et économique du secteur agricole laitier de son pays. En effet, on peut estimer à quelques 200.000 le nombre d'exploitations et à plus d'un million l'effectif des vaches laitières. A l'exception de 1.500 grandes propriétés, les fermes sont de petite ou de moyenne dimension et l'importance de leur troupeau laitier n'excède pas 5 vaches en moyenne. 80 % du lait produit en Belgique provient d'exploitations ne possédant pas plus de 10 vaches laitières. D'un autre côté, le nombre moyen de vaches laitières par ha de terres cultivées est de 1,04 et par ha de prés et de prairies, de 1,11. Il s'ensuit que vu le faible nombre de vaches à exploiter et la forte densité du cheptel laitier, le rendement de l'exploitation laitière ne saurait être fort élevé en Belgique. Encore faut-il que par une technicité poussée le fermier soit parvenu à un rendement moyen par vache qui soit un des plus élevés que l'on connaisse (3.850 litres) sinon le prix de vente du lait n'aurait jamais pu couvrir le prix de revient fixé officiellement avec une justesse qui tient plus compte de la situation du marché que de celle du fermier.

Pour toutes ces raisons, le fermier belge bien que progressiste hésite à faire des investissements nouveaux après tous ceux qu'il a déjà consentis. Dans le domaine de la réfrigération mécanique, il faudra certainement l'encourager par des mesures propres à transformer sa conviction par des actes concrets. En clair, cela veut dire qu'il faudra mettre à sa disposition un type de réfrigérant dont le prix soit à la mesure de son exploitation et de ses possibilités financières.

Il y a lieu tout d'abord de mettre sur le marché un appareil de grande série, robuste et peu coûteux. Le type de l'appareil n'est pas en cause. Pourvu qu'une solution adéquate du problème puisse être trouvée, pleine liberté doit être laissée aux constructeurs et il est à espérer que leur ingéniosité ne se trouvera pas en défaut. Pour contrôler l'efficacité des solutions présentées, il semble cependant nécessaire de disposer dans notre pays d'une station scientifique et pratique

d'essais qui travaille comme les stations laitières des Instituts Supérieurs Agronomiques et qui accorde des certificats de contrôle permettant aux fermiers d'acheter un appareil sans devoir courir les risques du banc d'essai. Mais ce qu'il faut surtout, c'est sortir de la période du prototype. En Belgique, beaucoup d'appareils ont été essayés mais ils en sont restés à l'état du prototype, parce que leur coût initial était trop élevé. Personne ne s'est mis en tête de fabriquer en grande série un type d'appareil adéquat, simple, robuste, de faible consommation d'énergie et facile à entretenir. Ce fut peut-être parce qu'on n'a pas voulu réaliser jusqu'à présent la nécessité de généraliser la réfrigération mécanique dans nos fermes laitières. Il faut certes qu'à l'origine on prenne toutes les précautions pour produire un lait sain et propre, on peut même envisager l'application de tous les systèmes qui améliorent, facilitent et accélèrent la récolte et le transport du lait, mais dans les conditions de production, d'organisation et de travail qui sont les nôtres, l'expérience a montré que l'on ne résoudra pas le problème de la qualité du lait sans recourir à la réfrigération mécanique à la ferme.

Pour appliquer cette solution dans la pratique, il faudrait que les autorités compétentes et en premier lieu le département de l'Agriculture se prononcent à ce sujet. Or ils ne l'ont pas fait jusqu'à présent, ou pas avec suffisamment de netteté. On a même eu à un certain moment l'impression qu'ils ne le feraient pas. De là, au moins pour une part, l'hésitation des constructeurs. Nous estimons quant à nous, que la question a suffisamment mûri pour que l'on prenne une décision. Pour marcher de l'avant, il faudra probablement que le gouvernement prenne des mesures dans le genre de celles qu'il a prises pour procéder à l'éradication de la tuberculose bovine. Si on reconnait que l'amélioration de la qualité du lait par la réfrigération à basse température à la ferme est d'utilité publique, pourquoi ne pas soutenir au moins les pionniers qui en prennent l'initiative. On pourrait subsidier la réfrigération mécanique à la ferme. En fait, le système fonctionne déjà, mais on pourrait concentrer en un subside accordé à cette fin, tous les autres petits subsides accordés à des titres divers pour l'amélioration de la qualité du lait. On pourrait accorder des facilités de crédit, de l'argent à bon marché et à long terme, à ceux qui dès maintenant, veulent s'installer. Et si on voulait organiser la chose et assurer une mise en marche convenable, pourquoi ne pas mettre sur pied un service technique qui centraliserait tout ce qui concerne l'agréation des types d'appareil, les subventions, l'octroi de crédits au sein de l'organisme qui devra s'occuper un jour de l'application de la politique du paiement du lait à la qualité. Car en fin de compte, l'élément décisif

dans la généralisation de la réfrigération mécanique du lait à la ferme sera le paiement selon la qualité. La qualité du lait doit être améliorée en général, celle du produit servant à faire du lait de consommation devrait même être relevée dans sa totalité au niveau du lait A. Pour faire réussir l'ensemble de cette politique, il faut payer selon la qualité. Le fermier qui produit un lait de qualité devrait être récompensé de son effort. Rien que pour le fait d'avoir produit un lait qui satisfasse à des critères de qualité bien déterminés, il devrait toucher une prime qui ne devrait pas être dépendante de la valorisation du produit fini, mais qui devrait éventuellement être récupérée sur le prix du lait qui ne satisfait pas à ces critères. Cette prime devrait être assez substantielle pour qu'elle permette un effort qui donne une solution à tous les problèmes posés par la production du lait de qualité et notamment par celui de la réfrigération mécanique. Cela suppose que la part de cette prime réservée à la qualité bactériologique et biochimique du lait soit relativement conséquente par rapport à l'ensemble de la prime pour que le fermier trouve un intérêt suffisamment grand à s'équiper pour la production et la conservation du lait à basse température. L'augmentation de la consommation du lait et la réussite de notre politique laitière de qualité est à ce prix.

BIBLIOGRAPHIE

(1) Seelemann, M. *Influence du refroidissement et du transport sur la teneur microbienne du lait.* 6e Journées d'Études Fil. Liebefeld, Berne, 1960. Doc. 3.
(2) Gotze : *Observations et recherches sur l'emploi du Melk-Express-Verfahren* Diss.-Inaug. Berlin 1959.
(3) Anquez, M. : *Refroidissement du lait à la ferme.* Méthodes utilisées et ésultats obtenus en France. 6e Journées d'Études Fil. Liebefeld, Berne, 1960, Doc. 2.

Résumé

Un des objectifs fondamentaux de l'économie laitière belge concerne l'augmentation de la consommation du lait en nature. La réalisation de cet objectif postule la production d'un lait de la plus haute qualité possible. Une telle qualité dépend en premier lieu de la configuration bactériologique du lait produit à la ferme et acheminé vers les lieux de préparation. Sous ce rapport il y a lieu de souligner toute l'importance de deux facteurs dont l'influence, à côté d'autres, semble déterminante : la réfrigération et le transport.

Si la récolte pouvait se faire deux fois par jour et le lait amené à la laiterie endéans les limites de sa période bactériostatique, il n'y aurait pas de problème. Mais dans les conditions de ramassage qui prévalent dans ce pays, la double

récolte journalière ne semble pas réalisable dans un avenir rapproché. Dès lors la solution à envisager réside plutôt dans une généralisation de la réfrigération mécanique du lait, de façon qu'au départ de la ferme la température ne dépasse jamais 10°.

Tenant compte de la structure sociale et économique du secteur agricole laitier belge, il semble qu'il faille s'attacher à mettre à la disposition du fermier belge un type de réfrigérant mécanique adéquat dont le prix soit à la mesure de son exploitation et de ses possibilités financières. Cette solution attire l'attention sur les 3 problèmes suivants :

a. la fabrication d'un appareil de grande série robuste et peu coûteux ;

b. le soutien de l'État par voie de subsides d'équipement ou de facilités de crédit ;

c. le paiement généralisé du lait à la qualité, étant entendu que la prime accordée pour la pureté bactériologique du lait soit suffisante.

Milk refrigeration on the farm in Belgium

Summary

One of the fundamental aims of the belgian dairy economy concerns the increase of milk consumption. This requires the production of a milktype of the highest possible quality. Such a quality depends at first on the bacterial configuration of the milk produced on the farm and transported to the dairy. It is necessary in this respect to underline the importance of two factors having amongst others, a decisive influence : refrigeration and transport.

If collection can be done twice a day and the milk transported to the dairy while bacteria are in the lag phase, there is no problem. But under conditions of collection prevailing in our country there seems to be no expectation in the near future for a repeated collection every day. Hence the solution to be taken under consideration lays rather on the side of a generalized mechanical refrigeration, so as to keep the milk on a temperature not to exceed 10° C when leaving the farm.

With regard to the social and economical structure of the belgian agricultural dairy sector, it seems to be indicated to equip the belgian farm with a suitable type of mechanical refrigerator, costing a price which takes into account the size of the exploitation and the financial possibilities of the farmer. This solution calls the attention on the 3 following problems :

a. the manufacture on a big scale of a robust and cheap apparatus ;

b. the state intervention by means of equipment subsidies or easy credit terms ;

c. the generalized payment of milk according quality, in such a way that a sufficient premium be guaranted for the bacteriological purity of the milk.

Die Abkühlung der Milch auf dem Hof in Belgien

ZUSAMMENFASSUNG

Ein der Hauptzwecke welche durch die belgische Milchökonomie nachgestrebt wird ist die Steigerung des Verbrauches der Trinkmilch. Dieser Zweck kann nur erreicht werden durch die Produktion von Milch einer hervorragenden Qualität. Eine derartige Qualität ist an erster Stelle abhängig vom Bakteriengehalt der Milch welche auf dem Hof produziert und zur Molkerei transportiert wird. Hier muss die Wichtigkeit zweier Faktore, nebst anderen, besonders betont werden : die Abkühlung und der Transport der Milch.

Wenn das Versammeln die Milch täglich zweimal geschehen könnte und innerhalb der bakteriostatischen Periode zur Molkerei transportiert werden könnte, würde es keine Problemen geben. Diese Lage scheint aber nicht in diesem Lande in einer nahen Zukunft zu verwirklichen. Daher würde die zweckmässige mechanische Abkühlung der Milch (maximum 10° C beim Verlassen des Hofes) die beste Lösung darstellen.

Mit Rücksicht auf die soziale und ökonomische Struktur der belgischen Milchwirtschaft sollte man sich bemühen dem Bauer einen mechanischen Kühlapparat zur Verfügung zu stellen dessen Preis in Verhältnis sei mit seinem Betrieb und finanziellen Möglichkeiten. Diese Lösung lenkt die Aufmerksamkeit auf die drie untenerwähnten Probleme :

a. die Massenherstellung eines starken und billigen Kühlungsapparaten ;

b. die Staatsunterstützung durch das Zubilligen von Ausrüstungsprämien oder billigen Krediten ;

c. die verallgemeinerte Bezahlung der Milch der Qualität gemäss, unter die Bedingung dass die Prämien für die bakteriologische Sauberkeit der Milch ausreichend seien.

COLLOQUE SUR LE RÔLE DE L'INGÉNIEUR AGRONOME DANS LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

ORGANISÉ PAR L'ASSOCIATION DES INGÉNIEURS SORTIS DE L'INSTITUT AGRONOMIQUE A GEMBLOUX (A. I. Gx)

Gembloux, 31 juillet 1960

PRÉSIDENT DU COMITÉ ORGANISATEUR :

M. Bruneau

Président de l'A. I. Gx., Bruxelles

L'économie agricole

par Georges Séverac
Chef de travaux d'Économie Rurale
à l'Institut National Agronomique, Paris (France)

Deux mobiles principaux sont à l'origine de la recherche économique : l'un est le désir d'une plus grande harmonie dans les relations humaines, l'autre est la poursuite d'une plus grande efficacité des actions individuelles.

Les doctrines économiques se sont toujours efforcées de concilier les deux points de vue. Périodiquement, surtout depuis deux siècles, l'on a cru découvrir la théorie définitive, celle qu'il suffisait de diffuser et d'appliquer pour que la justice et l'action ne soient que deux aspects d'une méthodologie plus générale. Et certes, les théories qu'ont inspirées ces doctrines n'ont pas manqué de réalisations à leur actif : que ce soit le libéralisme du 18e siècle, le néo-libéralisme ou le marxisme du 19e siècle, la théorie générale de Keynes, puis le positivisme économique du 20e siècle, tous peuvent se glorifier de découvertes désormais acquises, de réussites politiques, et de spectaculaires essors économiques.

Pourtant, un fait assez paradoxal retient l'attention. Prenons l'un quelconque des livres fondamentaux concernant les doctrines précédentes. Il est bien rare qu'au cours de son exposé, l'auteur ne fasse pas allusion à des problèmes agricoles, ne serait-ce qu'en parlant de rentes, de capital ou de comportement du consommateur. Allons plus loin : le problème du niveau de vie est presque toujours évoqué comme un problème de consommation alimentaire, et l'on insiste beaucoup sur le caractère vital de ces besoins en nourriture, la nécessité de les satisfaire en priorité.

Mais venons-en aux conclusions : on parlera de modifications institutionnelles, ou d'action sur les différentes formes du capital, d'influence sur les circuits de marchandises ; on ne citera les problèmes agricoles qu'en passant, comme un cas particulier du problème général de la production.

Et si maintenant nous jetons un coup d'œil sur les économies réelles, y compris celles qui prétendent être d'abord inspirées par un souci de développement agricole, nous avons l'impression d'une sorte d'irréalisme pratique, d'une étrange coupure entre la théorie officielle et la situation réelle de l'agriculture.

Tandis que dans les économies qui se disent libérales, l'économie agricole tend à se présenter comme un système complexe de défense contre les aléas de la concurrence, dans les économies qui se disent socialistes, l'économie agricole se présente comme une économie subordonnée, où les producteurs effectifs sont l'objet de la méfiance constante des pouvoirs publics.

Si maintenant nous nous intéressons à la manière dont sont effectivement gérées les entreprises agricoles, nous avons tellement de difficultés à leur appliquer les schémas prétendus généraux de la science économique que la plupart des esprits cèdent à l'une des deux tentations suivantes : ou bien ils s'en tirent en décrétant que l'agriculture est un secteur anachronique, dont les routines injustifiées doivent être extirpées par une action venue de l'extérieur, ou bien ils affirment que l'économie agricole est une économie radicalement originale, dont les valeurs propres doivent être protégées à tout prix.

Il est évident que ces deux positions passionnées sont aussi peu réalistes l'une que l'autre ; elles traduisent simplement notre impatience devant ce que nous ignorons, la volonté exaspérée de refuser la soumission aux faits ou, au contraire, la passivité devant ce qui est, l'auto-justification d'une démission devant le réel, devant les efforts qu'exige une remise en ordre du réel.

C'est alors que l'ingénieur agronome intervient. Il est dans une situation particulièrement ambiguë. Sur le plan technique, son travail consiste à analyser une réalité complexe et toujours très imparfaitement connue pour, cependant, l'ordonner, en des combinaisons nouvelles, avec toute la part de risque que cela comporte, et en restant responsable du résultat.

Sur le plan économique, il lui faut coordonner une réalité technique floue et souvent mal maîtrisée avec les règles beaucoup plus précises et beaucoup plus déterministes de l'économie non agricole.

Sur le plan social enfin, il est un interprète, un traducteur, entre deux langages, deux cultures, deux conceptions du monde séparées par tout un héritage d'évolutions historiques divergentes, ou, en tout cas, très partiellement confondues.

On pourrait, en schématisant quelque peu, dire que l'ingénieur agronome est, vis-à-vis du monde agricole, le représentant, l'agent, d'une volonté sociale de croissance économique et, vis-à-vis du monde non agricole, le symbole, l'expression de la résistance qu'opposent les faits agricoles à cette volonté sociale de croissance économique.

Intellectuellement, moralement, c'est une situation éminemment inconfortable. Mais cet inconfort, générateur d'inquiétude, de besoin de sécurité, donc de connaissance, fait justement de l'agronome un homme particulièrement prédisposé à la recherche économique et

sociale. Et sa contribution va naître aux trois niveaux que nous évoquions tout à l'heure : technique, économique, social.

La compétence technique de l'agronome lui permet de juger la validité de tel ou tel modèle économique appliqué à l'agriculture. Elle seule peut assurer un choix entre ce qui est l'essentiel et ce qui est accessoire pour atteindre un objectif déterminé. Il pourra ainsi contribuer à l'établissement d'un type donné de comptabilité et, ce qui est encore plus important, apprécier les limites d'emploi des résultats effectivement obtenus. Sa collaboration pour l'établissement de budgets prévisionnels, qu'il s'agisse d'une exploitation, d'une région, ou même de l'agriculture de tout un pays, est indispensable. On sait que la connaissance des fonctions de production, auxquelles la théorie économique accorde une importance grandissante, ne peut être atteinte que par des techniciens. Les techniciens sont seuls capables de retrouver, dans les diverses propriétés connues d'une fonction de production déterminée, celles qui traduisent une réalité profonde et constante, et celles qui ne sont que le résultat de conditions provisoires.

Et ceci suffit déjà à expliquer les échecs répétés des économistes qui ont cru possible d'appliquer à l'agriculture des méthodes de programmation valables pour d'autres secteurs. Mais cela explique aussi que lorsque les agronomes ont fait appel à ces mêmes méthodes, ils aient souvent assez heureusement réussi.

Autrement dit, il est plus facile à un spécialiste d'une réalité donnée de bâtir un modèle portant sur l'objet de sa compétence qu'à un spécialiste de la construction de modèles d'acquérir une compétence sur les différents objets qui l'intéressent.

On pourrait épiloguer assez longuement sur ce phénomène, et se demander s'il n'y a pas là une raison très profonde de l'évolution des élites ; les élites naissent, sous l'influence d'une volonté sociale de croissance, au sein du milieu qu'il faut ordonner, s'affirment en se détachant progressivement de leur conditionnement antérieur, puis vieillissent et meurent lorsque, dans leur volonté d'expansion, elles en viennent à oublier que le modèle sur lequel elles ont fondé leur raison d'être ne correspond plus à la réalité qu'il prétend représenter.

Et nous voyons bien en ce moment se développer des écoles d'Economie rurale assez pragmatiques, plus soucieuses d'abord d'application pratique que de théorie générale.

Le cas de la France, où la presque totalité des économistes ruraux sont des agronomes de formation, est assez significatif.

Mais il est certain que la compétence technique seule ne suffit pas à faire un bon économiste. S'il est, avons-nous dit, plus facile d'apprendre à bâtir un modèle sur une réalité que l'on connaît, que d'étudier cette réalité après avoir appris des méthodes à priori de

construction de modèles, il reste cependant nécessaire de savoir bâtir effectivement le modèle. Le choix d'un modèle dépend en effet, certes, d'abord de la réalité qu'il prétend représenter, mais aussi, et au moins autant, de l'utilisation que l'on veut en faire. Bâtir un modèle d'économie rurale, cela signifie donner une image de la réalité agricole qui puisse servir à des économistes. Et ceci exige donc que l'agronome connaisse le langage de ces économistes et leur mode de pensée.

Et c'est alors que l'agronome intervient dans la théorie économique elle-même. En effet, les échecs de nombreux théoriciens de l'économie ne tiennent pas seulement à une mauvaise interprétation des faits agricoles. Ils viennent également de ce que bien des faits agricoles importants ne se laissent pas interpréter dans le langage courant des économistes.

On voit mal, par exemple, traiter un placement forestier par la méthode des intérêts composés : si l'on faisait le calcul, personne n'aurait théoriquement avantage à planter des arbres forestiers, sauf dans quelques cas exceptionnels d'arbres à très court cycle de végétation. Et on sait bien d'ailleurs que les forêts exigent un régime juridique et financier particulier. De même, on ne voit pas très bien comment un économiste classique pourrait justifier la plus grande partie des améliorations foncières. Demandons-nous aussi ce que signifie réellement la notion de prix de revient dans la plupart des fermes familiales. Et les économistes marxistes seraient encore plus en peine pour expliquer l'absence de concentration capitaliste des terres dans la plupart des pays évolués, ou le fait que les travailleurs appartenant à la famille du propriétaire de l'exploitation familiale sont plus mal rémunérés que des salariés agricoles.

Que, d'ailleurs, l'observation des faits agricoles contribue à enrichir la théorie économique, cela nous est confirmé non seulement par l'origine de nombreuses théories classiques, depuis les physiocrates jusqu'à Ricardo, mais encore par la floraison récente de la littérature sur les pays à économie essentiellement agricole, dits sous-développés, et à propos desquels la plupart des postulats économiques habituels cessent de valoir.

Pour un agronome qui a quelque peu réfléchi sur les liaisons entre le développement économique général et le développement agricole, il n'est pas douteux d'ailleurs qu'il est aussi absurde d'isoler l'un de l'autre qu'il le serait d'étudier la croissance d'une plante en étudiant séparément l'alimentation en différents éléments minéraux.

C'est à dessein que nous employons cette image biologique.

Il y a des analogies profondes entre la croissance biologique et la croissance économico-sociale, et un esprit accoutumé aux méthodes intellectuelles du biologiste est donc assez bien placé pour se préoccu-

per d'économie générale. Par ailleurs, cette interdépendance fondamentale des faits économiques a été outrageusement schématisée en général, parce que la théorie a été toujours plus soucieuse de se mettre au service de tel ou tel groupe social que de rendre compte objectivement des processus globaux de croissance et des fonctions qu'ils impliquaient dans un état donné de la technique.

A ce niveau, l'agronome peut encore intervenir. Il est, en effet, à la fois au contact de la civilisation scientifique moderne, assez nettement consciente du devenir de notre société et de ses objectifs, et au contact du groupe social resté le plus proche des aléas naturels, du groupe le plus averti de la précarité de notre emprise sur le monde, le plus sensible aux dangers de la démesure et le plus craintif devant l'inconnu.

Alors que l'on s'inquiète devant le déferlement démographique, la partie de la Société la plus dynamique, la plus débordante de moyens et de connaissances, ignore encore quelle civilisation, quelles structures, quel langage lui permettront d'agir efficacement pour parer à la famine, car les bras et les cerveaux qui pourraient s'attaquer à l'accroissement de la production restent inemployés, restent en friche : nous aurions besoin d'un truchement, pour communiquer à tous les paysans du monde, autrement que par le vol ou la contrainte, le goût et les moyens d'améliorer leur propre sort et de participer à la vie commune de toute l'humanité. Et ce langage, ces structures, cette civilisation, comment les créer et les mettre en œuvre sans la collaboration de l'agronome ?

Mais on peut alors demander où existe cet agronome omniscient, capable, au fond, d'embrasser tous les problèmes de l'humanité et, en plus, d'aménager le milieu naturel. Ne penserait-on pas justement à l'une de ces élites trop ambitieuses dont nous avons dit tout à l'heure qu'elles se condamnaient à mort en voulant monter trop haut sans s'assurer de meilleures fondations ?

Avouons-le franchement : le risque de mort existe ; disons même que l'agronome qui se fait économiste rural, puis d'économiste rural, économiste général, pour déboucher finalement dans la politique, cet agronome est fatalement perdu un jour, et pour la technique d'abord, puis pour l'économie, enfin perdu tout court, à moins qu'il ne revienne, mais alors à quel prix, jusqu'à ses sources initiales. Heureusement, le bilan ne se limite pas là.

Nous avons schématisé, en parlant d'agronome, au singulier. Il vaut mieux parler d'une chaîne d'agronomes, allant vers des degrés croissants d'abstraction et de généralité, relayés ensuite par d'autres spécialistes. Notre théorie de la naissance, de la vie et de la mort des élites semble s'effondrer. Mais il reste que la chaîne ne doit pas être de longueur excessive. En outre, ses différents maillons doivent être

bien reliés. Ceci signifie non seulement de fréquents échanges, du travail d'équipe, mais encore une culture commune. Et aucune de ces conditions n'est parfaitement réalisable.

L'information tend à se dégrader au fur et à mesure qu'elle parcourt la chaîne, et pour lutter contre cette dégradation, cause de mort sociale, il faut réduire le nombre de relais, c'est-à-dire prévoir aux différents niveaux des « polyvalents » qui ne peuvent être que des hommes à culture générale très large, en pleine possession du langage le plus sûr et le moins équivoque, capables d'interpréter le langage particulier des différents spécialistes.

Quel peut être ce langage général, disons cette culture d'honnête homme, au sens du XVII^e siècle ? On a trop rapidement dit qu'elle était désormais impossible. En fait, chaque époque a la culture générale dont elle est digne, et la nôtre n'a pas fait faillite. La culture en question et le langage adéquat, des recherches convergentes menées dans tous les pays avancés du globe sont en train de l'édifier.

Mathématiques modernes, logique symbolique, cybernétique, bâtissent des modèles de plus en plus englobants, capables d'accueillir sans éclater des contenus de plus en plus complexes, de plus en plus riches d'intuition et d'expérience intellectuelle. Mais cet outil ne serait qu'une forme vaine si, justement, on ne savait le garder dans son rôle d'outil, c'est-à-dire apprécier ses relations avec la vie concrète et les privilèges irréductibles de la pensée humaine. Et c'est encore l'agronome, croyons-nous, pourvu que sa formation mathématique ne soit pas négligée, qui est le plus capable de porter des justes appréciations.

Ce n'est, pensons-nous, d'ailleurs, pas un hasard si cette culture moderne, qui est la plus haute expression du génie de la civilisation industrielle, nous paraît plus adaptée aux besoins de l'agronome qu'à ceux de n'importe quel autre ingénieur actuel.

En effet, cette culture naît de la volonté de surmonter les difficultés apparues au sein des structures économiques édifiées en utilisant l'agriculture comme amortisseur contraléatoire, comme réserve permettant d'assurer les risques de l'industrialisation.

Désormais, l'agriculture refuse ce rôle de matelas de l'économie, elle désire s'intégrer dans l'économie moderne, et, du même coup, il faut transférer dans les secteurs secondaires et tertiaires une partie des risques et des responsabilités que l'agriculture avait la charge de couvrir. Et c'est alors qu'au déterminisme rigide de la pensée scientifique antérieure au XX^e siècle, à la séparation dogmatique et arbitraire entre celui qui ordonne et ce qui est ordonné, il faut substituer les liaisons organiques aléatoires et interdépendantes familières au biologiste et à l'agronome.

Et nous avons, pour cela, besoin d'outils plus souples, plus nuancés, apparemment moins orgueilleux, et seuls efficaces cependant en dernière analyse. Et ces outils, que la civilisation industrielle découvre, dont elle nous donne une plus claire conscience, ce sont ceux-là mêmes que l'agriculteur, puis l'agronome, ont, empiriquement et en tâtonnant, déjà plus ou moins obscurément mis au point.

L'agronome, en se dirigeant vers les disciplines de l'économie rurale, ne contribue donc pas seulement à résoudre des problèmes de gestion d'entreprise, il ne contribue pas seulement à enrichir la théorie générale de l'économie. Il travaille, en collaboration avec le renouvellement scientifique de notre temps, à créer une nouvelle conception générale du monde, une nouvelle synthèse théorique d'une expérience déjà très ancienne mais toujours jeune : celle de la lutte de l'homme pour asservir consciemment l'univers aux fins supérieures de l'humanité.

Certes, nous savons bien que lorsqu'on systématise, lorsque l'on « modélise » une expérience en une théorie, et qu'on pousse la théorie à ses ultimes conséquences pratiques, cette théorie finit toujours par mourir de sa belle mort, remplacée par une théorie plus jeune, plus proche des faits. Mais entre temps, la science a progressé, l'humanité aussi, et cela seul mérite que l'entreprise soit tentée.

Résumé

Le rôle de l'ingénieur dans les problèmes agricoles est à cheval sur les activités techniques et économiques. Comme technicien, il doit être en contact étroit avec les possibilités du milieu naturel. Comme économiste, il doit avoir des notions sur les possibilités du milieu économique et humain qu'il étudie.

Le meilleur économiste rural est à mon avis le technicien, l'ingénieur agronome qui s'est penché sur les problèmes économiques, qui en a étudié la théorie. Car l'économiste de formation générale, n'ayant pas un contact suffisant avec les problèmes techniques et de pratique agricole, n'en pourra concevoir toutes les possibilités.

Ceci est spécialement vrai pour les pays sous-développés dont l'évolution, à base agricole du départ, suivra des voies différentes de celle des pays déjà industrialisés.

Agricultural economics

Summary

The concern of the agriculturist includes economics as well as techniques. As a technician, he must be in close contact with the possibilities of the natural environment. As an economist he must have some idea about the economic and human environment which he investigates.

To my mind, the best agricultural economist will be the technician, the agricultural engineer, who has studied the theory and has acquired knowledge of the economic problems. The economist with a background of general training, having insufficient contact with the technical and practical problems in agriculture, will not be in a position to be aware of all the available possibilities.

This is particularly true for the underdeveloped countries whose progress, based on agriculture at the start, will evolve along lines different from those followed in already industrialized countries.

Die landwirtschatfliche Ökonomie

Zusammenfassung

Die Aufgabe des Diplomlandwirtes in den landwirtschaftlichen Problemen befindet sich auf der Schneide zwischen den technischen und den ökonomischen Tätigkeiten. Als Techniker muss er in enger Berührung mit den Möglichkeiten des natürlichen Milieus sein. Als Ökonomiker muss er Kenntnisse über die Möglichkeiten des ökonomischen und menschlichen Milieus, das er untersucht, haben.

Meiner Meinung nach ist der beste landwirtschaftliche Ökonomiker der Techniker, der Diplomlandwirt, der sich über die ökonomischen Probleme gebeugt und deren Theorie studiert hat. Denn der Ökonomiker, der nur eine allgemeine Formation bekommen und keine genügende Berührung mit den technischen Problemen und der landwirtschaftlichen Praxis hat, kann nicht alle Möglichkeiten erfassen.

Dieses bewahrheitet sich vor allem für die unterentwickelten Länder, deren Entwicklung im Anfang auf die Landwirtschaft gegründet war, und die einen anderen Lauf nehmen wird, als die der Länder, die schon industrialisiert sind.

L'hydraulique agricole

par F. Hellinga
Professeur à la Landbouwhogeschool, Wageningen (Pays-Bas)

Introduction

Devant un auditoire peu expert en questions hydrologiques, la plupart des conférenciers déclareront qu'il semble difficile de fournir un exposé sur une matière aussi simple, aussi connue et aussi répandue que l'eau. Après cela, le conférencier se lance le plus souvent dans un exposé fastidieux qui nous fait désirer le voir disparaître dans un excès d'eau ou cesser son discours dans un état de dessèchement absolu.

Le conférencier peut encore impressionner son auditoire en lui parlant de la grande masse d'eau qu'il faut chaque année pour faire croître une culture. Bien des milliers de tonnes d'eau sont nécessaires par hectare et par saison. Par contre, dans les terrains bas le long des côtes de la mer du Nord, il faut évacuer par pompage quelques milliers de tonnes d'eau par hectare pendant la saison humide afin de pouvoir garder le sol en culture permanente. Comparé à ces quantités énormes, le poids de la récolte par hectare semble négligeable.

L'expérience sert de guide

Je ne me hasarderai pas, mesdames et messieurs, à traiter devant vous mon sujet d'une de ces manières. Je préfère prendre pour point de départ le fait que l'agriculteur, même l'agriculteur primitif, a reconnu dès le début l'importance de l'eau. Dans la mesure où les autres circonstances le permettaient, les premiers agriculteurs se sont établis en des endroits où les précipitations favorisaient les cultures et où aucun excès d'eau n'entravait la mise en valeur des terres. De plus, ils choisirent pour s'établir les endroits où la population et son bétail pouvaient trouver de l'eau potable de bonne qualité en quantité suffisante.

En appréciant le caractère plus ou moins favorable des conditions hydrologiques à l'occupation et à l'exploitation du sol, nos ancêtres suivaient leur bon sens et leur intuition. Ainsi s'est constitué le domaine spécial de connaissance que nous nommons l'expérience. Par cette méthode empirique, on s'est frayé un chemin parmi les divers problèmes lorsque la densité croissante de la population et peut-être

aussi la nécessité d'échapper à la domination et à la violence ont obligé les agriculteurs à utiliser des terres nouvelles où les conditions hydrologiques idéales n'existaient pas à l'origine. C'est ainsi que sont apparues les techniques particulières de l'aménagement des eaux qui ont trouvé un large domaine d'application sous forme d'irrigation et de drainage.

Mais il n'en restait pas moins vrai que toute application de ces techniques était basée sur des connaissances empiriques. L'explication des phénomènes observés faisait défaut, ce qui rendait souvent impossible de dresser un projet convenable quand on désirait pratiquer l'irrigation dans une région sans posséder d'expérience locale. Le manque de méthodes et de discipline scientifique empêchait aussi, par exemple, de pénétrer les causes de la salinisation et de trouver les moyens de l'éviter quand elle menaçait de détruire les progrès réalisés dans une région grâce à l'irrigation. L'association spéciale d'un système d'irrigation avec un réseau d'assainissement, que nous connaissons actuellement dans la plupart des régions irriguées nouvelles, formait un problème que l'on ne pouvait résoudre sur des bases empiriques.

Débuts des recherches

Comparées à la longue histoire de l'utilisation de l'eau, les recherches dans ce domaines sont encore assez récentes. Il est impossible dans le cadre de cette conférence de nommer sans omissions les noms des chercheurs qui ont énergiquement stimulé le progrès de nos connaissances et de nos méthodes d'étude. J'aimerais pourtant faire exception pour les noms de De Chézy et Darcy, qui, par leur études éminentes du transport de l'eau dans les canaux et de l'écoulement des eaux dans le sol, ont ouvert la voie à l'étude systématique de bien des problèmes relatifs à l'aménagement des eaux.

On pourrait se demander où se situe le point de départ de l'ingénieur agronome dans les recherches d'hydraulique agricole. Pour y répondre, le mieux est de considérer le cycle de l'eau dans la nature, pour constater que l'eau tombe sur la surface du sol sous forme de précipitations, ruisselle pour une part à la surface du sol et s'y infiltre pour une autre part. Dans le sol, elle se partage en une fraction qui est retenue dans la couche supérieure et une autre fraction qui va rejoindre les eaux souterraines. Le cycle est complété parce que d'une part, l'eau de surface et l'excès d'eaux souterraines s'écoulent par les ruisseaux et rivières pour se jeter dans les lacs et les mers, d'où ils s'évaporent ; l'autre part des eaux est absorbée par la végétation dont les racines se trouvent dans la couche supérieure du sol, de sorte que cette eau s'évapore de nouveau dans l'atmosphère. Cette dernière fraction est

importante et constitue plus de 50 % des précipitations annuelles dans nos régions par exemple, et même plus de 80 % dans certaines régions.

La couche d'enracinement, source de connaissances de l'hydrologie agricole

L'intérêt de l'ingénieur agronome doit porter tout d'abord sur cette zone singulière où l'eau, quoique liquide, n'est pas présente sous une forme visible à l'œil nu : la couche supérieure du sol, couche d'enracinement. Cette partie du cycle de l'eau a reçu pendant longtemps moins d'attention que les couches plus profondes contenant les eaux souterraines, où surtout l'ingénieur s'occupant de l'alimentation en eau potable a largement contribué à l'étude de la présence et du transport de l'eau dans le sol. Un autre domaine déjà soumis depuis longtemps à une étude approfondie est celle des eaux à surface libre. Ici, les problèmes d'écoulement et de rétention ont surtout fait l'objet des recherches de l'ingénieur civil.

On s'intéresse depuis relativement peu de temps à la couche de sol accessible aux racines, où l'eau se trouve en un milieu non saturé. Ici, l'étude de la présence et du mouvement des eaux s'est révélée bien plus difficile que dans les couches saturées d'eaux souterraines. La teneur en eau, déterminée par exemple par des méthodes gravimétriques, était une donnée insuffisante. Ce n'est qu'après l'introduction de la notion de potentiel capillaire comme caractéristique des conditions hydriques que les recherches ont pu progresser. Alors, on constata aussi l'importance de la quantité d'eau que le sol peut retenir malgré l'action de la gravité et celle de la quantité tellement liée au sol que la plante ne peut pas l'utiliser.

Les recherches fondamentales concernant le mouvement des eaux dans cette couche non saturée sont encore très récentes. L'importance de ces recherches apparaît clairement quand on considère qu'elle comprend l'étude de l'infiltration de l'eau dans le sol dans des régions irriguées par gravité ou par aspersion ou dans des régions à érosion, et l'étude de l'ascension capillaire de l'eau dans des sols à nappe phréatique élevée.

La tâche de l'ingénieur agronome consiste à réaliser les conditions idéales de croissance dans la zone d'enracinement. Nous devons nous rendre compte que, dans la zone d'enracinement, il se déroule des processus dont l'étude doit nous fournir les normes de l'irrigation et du drainage. Sans de telles normes, il n'est pas possible d'établir un projet d'aménagement de l'eau. Un seul exemple nous en donnera l'illustration. Dans la dernière décennie, on a beaucoup parlé du degré de

dessèchement qu'un terrain irrigué peut atteindre avant que l'on amène de nouveau de l'eau. Aux États-Unis, il s'est formé deux écoles peut-être pas diamétralement opposées, mais pourtant contradictoires. L'une voit peu d'inconvénient dans un dessèchement considérable de l'eau se trouvant à la disposition de la plante, tandis que l'autre école est d'avis que la croissance se ralentit à mesure que le sol se dessèche. Dans certaines parties de l'Europe, surtout en Allemagne, d'autres opinions ont encore été exprimées qui ne prenaient pas pour point de départ le degré de dessèchement du sol mais la phase de croissance de la plante. Il semble maintenant que l'approfondissement des connaissances par des recherches fondamentales étendues puisse permettre de réduire ces différents points de vue au même dénominateur, à savoir le potentiel capillaire du sol dans le voisinage immédiat de la racine.

Nous voyons donc clairement combien l'essai scientifique, l'analyse théorique et la technique de recherches perfectionnées doivent tous fournir leur contribution à la solution des problèmes de ce genre.

Il est aisé de citer un exemple analogue concernant le drainage. En général, le drainage est considéré comme la décharge de l'excès en eaux souterraines. Mais cela ne donne qu'une définition indirecte de son but, puisque les normes de drainage doivent avoir pour base la nécessité de réaliser de bonnes conditions d'aération dans la zone d'enracinement sans produire de déficit en eau. Ici encore, les recherches commencent à se frayer un chemin à travers les notions empiriques anciennes formulées en termes très généraux. Cette étude ne progresse encore que très lentement.

Dans l'étude relative aux conditions hydriques dans la zone d'enracinement, on recherche beaucoup la collaboration de spécialistes, notamment en physiologie végétale, en géophysique et en hydrologie. Ainsi, notre arsenal de normes sur les doses d'arrosage, les intervalles d'irrigation, les nappes phréatiques optimales et les degrés maximaux de salinité, se développe graduellement.

Il nous a semblé recommandable de signaler la position centrale de la zone d'enracinement comme source de toutes nos normes d'aménagement de l'eau en ce qui concerne la partie de nos travaux directement ou indirectement relative aux cultures agricoles.

La réalisation des normes agrohydrauliques

Les normes d'aménagement de l'eau étant établies, il faut réaliser la situation caractérisée par elles. Voilà le domaine par excellence de l'ingénieur agronome qui s'occupe d'hydraulique agricole. Car pour cela, il lui faut mettre au point des procédés d'alimentation en eau et

de décharge des eaux satisfaisant le mieux possible aux normes établies tout en étant adaptés aux conditions particulières de la région étudiée. De nombreuses recherches ont été effectuées avec succès dans ce domaine. On a acquis une grande habileté à classer les données climatologiques, topographiques, hydrologiques et pédologiques d'une façon efficace. Il n'est pas possible d'approfondir maintenant ce sujet. Devant la multitude de mises au point et de recherches — nous pensons par exemple à l'irrigation par aspersion, au drainage, au revêtement des canaux d'amenée — il n'est même pas à envisager d'en relever les différents aspects. Mais nous voulons en signaler un autre. Pour établir un projet moderne, l'étude préliminaire ne doit pas être limitée à ces aspects techniques, mais doit aussi — on se rend toujours mieux compte de cette nécessité — diriger son attention sur les conditions générales de l'agriculture dans la région étudiée et même sur les conditions sociales de la population intéressée. Le domaine de l'étude ne se limite pas aux détails techniques tels que les dispositifs d'aspersion et les tubes de drainage en matière plastique, ni aux problèmes hydrologiques tels que les débits caractéristiques de drainage et les modules d'irrigation. Il comprend également l'appréciation — surtout dans les régions sous-développées — de la mesure dans laquelle l'agriculture régionale saura s'adapter aux conditions plus favorables réalisées par l'aménagement de l'eau. Dans le passé, des projets, dont l'étude préliminaire avait été orientée d'une façon trop technique, ont été cause de grandes déceptions et de gros investissements non rentables dans des barrages et systèmes de canaux. Une autre possibilité d'obstacles dans ce domaine se trouve dans l'établissement de projets utilisant un outillage compliqué, par exemple des installations d'irrigation par aspersion dans des contrées où la population n'a pas la moindre expérience de l'outillage technique.

Dans l'étude préliminaire des projets d'aménagement de l'eau, l'ingénieur agronome agit d'une façon indépendante. Il doit avoir pour but de réaliser une synthèse entre les normes d'aménagement de l'eau, l'outillage technique et les conditions économiques et sociales de la région qu'il étudie. Dans les projets de grande étendue, il s'assurera sans aucun doute de l'aide de spécialistes pour certaines parties du projet, mais en définitive, le mérite de son projet doit résider dans l'équilibre de tous les éléments qui jouent un rôle dans la réalisation de l'aménagement de l'eau.

Application des résultats de recherches scientifiques

La grande importance des recherches scientifiques nous apparaît quand nous nous rendons compte qu'en général, les terrains faciles

à défricher étaient déjà mis en valeur dans bien des parties du monde. Il nous faut donc maintenant étendre l'aménagement de l'eau à des régions présentant souvent des obstacles particuliers. Des régions où aucune expérience ne peut nous montrer le chemin, où il faudra investir de grands capitaux, où, en plus de cela, l'agriculteur actuel est peu expérimenté, possède peu de capitaux et est souvent peu enclin à contribuer au progrès.

Si tout cela est vrai pour les régions tropicales et subtropicales, en Europe la décision d'entreprendre une irrigati onsupplémentaire exige aussi une étude détaillée et approfondie. De plus, la tendance générale est d'appliquer des méthodes efficaces au point de vue technique mais surtout en ce qui concerne l'utilisation économique de la main-d'œuvre. On espère par exemple que les tubes de drainage en matière plastique, que l'on peut installer rapidement et simplement, contribueront dans une mesure importante à mettre en valeur d'une façon économique des régions encore insuffisamment assainies.

Après ce que je vous ai dit, vous comprendrez comment je me figure l'ingénieur agronome dans ce domaine. Il doit être capable de réunir dans sa pensée synthétique des éléments agronomiques, hydrologiques et techniques. Sa formation devra être adaptée à cette nécessité, ses méthodes seront d'une part du domaine spécialisé et d'autre part du domaine de la synthèse. Il faut qu'il ait une disposition prononcée à grouper dans un travail commun ses connaissances spéciales à celles d'autres spécialistes.

A partir de cette tribune internationale, j'aimerais exprimer encore le souhait de voir augmenter la coopération internationale. Il existe déjà un contact dans les organismes internationaux tels que la Commission Internationale de l'Irrigation et du Drainage, la Commission Internationale du Génie Rural, etc. Des revues nouvelles assurent la possibilité de rester au courant des travaux réalisés dans d'autres pays. Pourtant, il pourra être très utile d'étendre les relations internationales, non seulement pour augmenter les connaissances réciproques, mais encore pour organiser des études comparatives, par exemple sur l'application de l'irrigation supplémentaire dans les pays d'Europe Occidentale.

Pour terminer, je vous ferai observer qu'en comparaison de l'énorme expérience dans le domaine de l'aménagement de l'eau, l'étude scientifique est encore jeune. Vu sa jeunesse, il lui convient d'être très modeste, mais cette jeunesse garantit aussi une rapide croissance spontanée et pourra ainsi fournir une précieuse contribution aux efforts destinés à donner au monde plus de nourriture et des eaux meilleures.

Résumé

L'application de la maîtrise de l'eau sous forme d'irrigation, arrosage, polders et drainage est très répandue. Cette application est en partie vieille de plusieurs siècles et a produit une forte accumulation d'expérience. La nécessité d'appliquer la maîtrise de l'eau à l'expansion de terres culturales difficiles à défricher, et le désir d'intensifier l'emploi du terrain existant ont conduit à une étude scientifique de l'hydrologie par rapport à l'agriculture. Ceci menait en première instance à approfondir la connaissance expérimentale, mais cette jeune branche de science a déjà donné des résultats importants dans l'installation et l'amélioration de la maîtrise de l'eau en beaucoup de pays de la terre.

Agricultural hydraulics

Summary

The application of water control in the form of irrigation, watering, polders and drainage is a widespread process. It is partly centuries old and a great deal of experience has been accumulated. The necessity of using water control in expanding the arable land in areas difficult to reclaim, and the desire to make a more intensive use of the existing land have led to a scientific approach to the problem of hydrology as related to agriculture. This primarily involved a more thorough experimental knowledge, but it has already produced important results in installing and improving water control in many countries all over the world.

Landwirtschaftliche Hydraulik

Zusammenfassung

Die Anwendung der Beherrschung des Wassers in Gestalt der Bewässerung, Besprengung, Eindämmung und des Dränierens ist sehr verbreitet. Diese Anwendung ist teilweise mehrere Jahrhunderte alt und hat reiche Erfahrung angehäuft. Die Notwendigkeit, die Beherrschung des Wassers auf die Erschliessung der Kulturböden, die schwer urbar zu machen sind, anzuwenden, und der Wunsch, den Gebrauch des bestehenden Landes zu intensivieren, haben zu einem wissenschaftlichen Studium der Hydraulik in Beziehung zur Landwirtschaft geführt. Dieses hat in erster Linie zu einer Vertiefung der Versuchskenntnisse geführt, aber dieser junge Wissenschaftszweig hat schon wichtige Ergebnisse in der Einrichtung und der Verbesserung der Beherrschung des Wassers in vielen Ländern der Erde gegeben.

Cas particulier de l'Ingénieur forestier

par A. Oudin
Directeur Honoraire de l'École Nationale des Eaux et Forêts, Nancy (France)

Les cérémonies du Centenaire d'un Établissement d'Enseignement revêtent, me semble-t-il, un double aspect :

— retour sur le passé, hommage aux Professeurs et anciens Élèves qui s'y sont succédés et qui, par leur travail, les succès obtenus au cours de leur carrière, ont fait la gloire de leur Institut.

— coup d'œil ensuite sur l'avenir : évolution des activités professionnelles, participation à cette évolution dans l'intérêt général et suivant les traditions de leur Institut.

C'est dans cette double perspective que seront présentées ces quelques suggestions sur le rôle de l'Ingénieur forestier dans la Recherche Scientifique, principalement dans le domaine de la Sylviculture.

Un des caractères de notre époque, c'est l'essor immense qu'ont pris les connaissances scientifiques et techniques dans les domaines les plus variés de l'activité humaine.

Les disciplines forestières auraient pu, par leur nature même, paraître présenter une stabilité qui les laissait un peu en marge de ce mouvement. Bien au contraire, le progrès scientifique a totalement transformé leur caractère. Du stade empirique qu'elle avait autrefois la sylviculture est passée au stade scientifique, évolution assez analogue, dans son principe, à celle dont ont bénéficié d'autres disciplines, la médecine par exemple.

Il y a un siècle, le forestier avait un caractère polyvalent. Deux ou trois professeurs suffisaient dans une École d'Enseignement supérieur à assurer la formation complète de l'ingénieur de l'époque. Le métier forestier comportait une large part d'intuition. On parlait volontiers de l'art du sylviculteur.

Aujourd'hui, s'appuyant sur des disciplines pratiquement inexistantes autrefois telles que l'écologie, la phytosociologie, la pédologie, la sylviculture a acquis un caractère scientifique certain.

Remarquons d'ailleurs que dans cette évolution scientifique les forestiers ne se sont pas toujours bornés à suivre le mouvement ou à s'y adapter. Dans certains cas, ils ont été des précurseurs.

C'est ainsi que l'écologie forestière était déjà en germe dans certains ouvrages édités bien antérieurement à 1900, tels nombre de paragraphes de la Botanique Forestière de Mathieu, par exemple.

L'importance des facteurs individuels dans le développement et les qualités des arbres, l'intérêt de distinguer souvent plusieurs races dans une même espèce linéenne s'étaient affirmés bien des dizaines d'années avant le développement pris par la génétique.

Les forestiers parlaient du tempérament des essences, de leurs exigences vitales avant que les botanistes n'aient envisagé la liaison entre conditions d'existence et présence d'une espèce.

En pédologie n'ont-ils pas été parmi les premiers à souscrire aux conceptions modernes ? D'ailleurs le profil d'un sol forestier qui évolue sous la dépendance quasi totale des conditions naturelles, est bien plus facile à interpréter, en général, que celui d'un sol agricole sur lequel l'action humaine s'exerce depuis des siècles : travail du sol, engrais, récoltes...

Les forestiers n'ont-ils pas été, aussi, parmi les premiers à insister sur l'importance des facteurs humains sur l'évolution de la végétation naturelle ?

Bien avant la fin du siècle dernier, des stations de Recherches forestières ont été créées dans la plupart des pays et se sont considérablement développées par la suite. Dans leur sillage, en fonction des résultats acquis les diverses disciplines forestières se sont progressivement individualisées. La spécialisation en foresterie, comme ailleurs, est devenue la règle et le caractère scientifique des différentes branches des connaissances forestières tend de plus en plus à s'affirmer.

Les Professeurs qui ont enseigné à l'Institut Agronomique de l'État, à Gembloux, les Ingénieurs qu'ils ont formés, ont largement participé à cette évolution scientifique dans le domaine des sciences forestières. Qu'ils en soient profondément remerciés !

Quel peut, ou doit être, dans l'avenir, le rôle de l'Ingénieur forestier dans cette course au progrès scientifique ?

Quelques constatations préliminaires ne seront peut-être pas inutiles.

Évidemment, une liaison étroite avec les diverses disciplines scientifiques est indispensable, disciplines de base ou disciplines relevant de l'application. Mais une première considération s'impose : les recherches forestières présentent une individualité propre qui tient à la nature même de leur objet. La longévité des arbres, leurs dimensions, la périodicité des réalisations opposée au caractère annuel des récoltes agricoles, la difficulté de distinguer le revenu du capital, tout cela nécessite des observations prolongées, des méthodes particulières d'investigation, souvent de grandes difficultés de réalisation, par exemple quand il s'agit d'aller récolter des greffons au sommet d'un arbre de 30 mètres de hauteur, de le cuber méticuleusement sur pied...

Le sol forestier a aussi des caractères propres. Il est bien souvent très riche en matière organique et les méthodes utilisées dans l'analyse

des sols de culture doivent être souvent plus ou moins profondément modifiées.

La recherche forestière doit aussi avoir, me semble-t-il, une orientation un peu particulière ; en Sylviculture notamment, la détermination d'une production en matière ne suffit pas. Un documentation sur les conditions d'utilisation des mètres cubes de bois obtenus est nécessaire — (propriétés physiques, mécaniques, chimiques) — autrefois ces conditions d'utilisation étaient fondées sur des traditions empiriques. L'application des connaissances anatomiques, l'application au bois des principes de la résistance des matériaux ont donné naissance à une science nouvelle : la xylologie. Production et utilisation doivent être étudiées simultanément scientifiquement.

Un autre caractère du bois, auquel il m'est nécessaire de faire au moins une rapide allusion est qu'il s'agit d'un matériau vivant. Sa structure rappelle ses conditions d'existence aux différentes phases de sa vie. Telles études en Sylviculture notamment, peuvent refléter un certain caractère d'individualisme qui ne saurait être négligé complètement.

Il est d'usage de distinguer les recherches fondamentales et les recherches appliquées, les limites entre ces deux catégories étant d'ailleurs assez imprécises. Quel est à cet égard le caractère habituel des recherches forestières ?

L'Ingénieur forestier attaché à un Institut spécialisé reçoit mission de poursuivre un programme de recherches. Pour le réaliser, il sera parfois amené à poursuivre une étude rentrant dans le cadre des recherches fondamentales, mais ce ne sera pas, je crois, le cas général. La majorité des problèmes forestiers rentrent plutôt dans le cadre des recherches appliquées.

Je laisserai de côté le cas de l'Ingénieur spécialisé appartenant à un Institut de Recherches. Un programme de travail lui est donné. Il l'exécute de son mieux en liaison avec ses collègues de l'Institut ou ceux d'un Institut analogue.

J'examinerai plus particulièrement le rôle de l'Ingénieur forestier, chargé d'une gestion domaniale, ou d'une gestion privée, et qui, malgré un travail assez lourd, peut encore consacrer un peu de temps à la recherche.

La première recommandation est d'éviter l'isolement. Les facteurs à élucider sont, en général, trop nombreux pour pouvoir être approfondis par un chercheur isolé. Parfois, ayant à résoudre un problème particulier, par exemple échec ou difficulté de démarrage d'une plantation, il sera tenté de procéder seul à des essais de travail du sol, d'apport d'engrais. L'idée peut paraître excellente. Cependant, la méthode est-elle bonne ? D'autres avant lui ont pu procéder à des essais ana-

logues qu'il ignore. D'autre part, les problèmes forestiers sont complexes. Il existe dans tous les pays un ou plusieurs Instituts de Recherches susceptibles de documenter leurs compatriotes. Consultons d'abord cet Institut et agissons suivant ses directives. Sinon, c'est la dispersion des efforts.

Au contraire, loin de rester isolé, l'Ingénieur forestier de terrain susceptible de participer aux recherches peut avoir un rôle extrêmement important à remplir en acceptant de se faire le collaborateur, l'assistant, dans sa région, d'un Institut de Recherches spécialisé, le trait d'union entre l'Institut et le praticien parfois insuffisamment averti.

Les Instituts de Recherches dans la majorité des pays ne peuvent pas tout faire. Ils n'ont ni le personnel, ni les moyens financiers, ni le temps. Voici par exemple qu'une étude est entreprise, basée sur un réseau de places d'essais. Pour aboutir à des conclusions valables, ce réseau doit être dense, établi avec des répétitions dans des stations de sol et de climat variés. Le but de l'expérimentation, les modalités de réalisation sont fixés, les placettes sont installées. Qui assurera les mesurages, les observations ?

L'idéal serait, à mon sens, de trouver dans la plupart des cas un Ingénieur forestier installé dans la région (service d'État ou service privé) qui accepterait de suivre l'expérimentation *dans ses détails*, de faire effectuer sous son contrôle les mesurages prévus, de fournir, le cas échéant, des observations qui risquent d'échapper au personnel de l'Institut parce qu'il n'est pas sur place et ne peut effectuer que des visites intermittentes.

Il s'établirait ainsi, sur l'ensemble du territoire, du pays (ou d'un groupe de pays) une sorte de service annexe de l'Institut, ou des Instituts de Recherches Forestières, service organisé avec le concours des Ingénieurs forestiers locaux, spécialisés ou non dans la recherche. Leur travail serait coordonné par l'Institut National de Recherches Forestières.

Ainsi, exécutées avec le concours de tous, les recherches forestières deviendraient le travail collectif d'Ingénieurs forestiers de formation et d'origine diverses. Tout en laissant à chacun sa liberté d'appréciation, de telles dispositions faciliteraient l'obtention des résultats, leur dépouillement, leur interprétation, les limites de leur généralisation. Elles tendraient à créer, sur les problèmes étudiés, une doctrine d'autant mieux assise qu'elle reposerait sur une expérimentation plus large, sur une discussion plus approfondie.

Résumé

Les recherches scientifiques ont pris depuis un quart de siècle un immense essor dans tous les domaines.

Les disciplines forestières, qui par nature auraient pu paraître affectées d'un large traditionalisme, ont d'une façon importante participé à ce magnifique mouvement scientifique et technique : écologie devenue la base scientifique de la sylviculture, génétique forestière, etc.

Les recherches forestières ont un caractère un peu particulier dû à la nature même de leur objet : longévité, dimension des arbres, périodicité de la récolte, absence de travail du sol (sauf crochetages, reboisements), absence d'engrais et d'amendements... A certains égards, une formation, des méthodes, parfois des techniques spéciales sont nécessaires.

La recherche forestière est essentiellement de la recherche appliquée. Les instituts forestiers spécialisés peuvent dans une certaine mesure participer à la recherche fondamentale, mais le rôle principal de l'ingénieur forestier, devenu chercheur, est l'application des résultats des études fondamentales, l'application des directives des instituts spécialisés, l'étude des conditions de généralisation des résultats acquis à la suite d'une expérimentation déterminée.

The particular case of forestry engineer

Summary

In the last 25 years, scientific research has widely developed in all fields of human activity.

Forestry in all its aspects, which might be expected to be ruled by traditionalism, has taken an important share in this splendid scientific and technical expansion : silviculture based on ecology, forestry genetics, etc.

Forestry research has by the nature of things a rather particular character : longevity, dimensions of the trees, periodicity of harvesting, absence of tillage (except in re-afforestation), of fertilizing and soil improvement. To some extent, special training, methods and techniques are required.

Forestry research is essentially applied research. Specialized forestry institutes can participate to some extent in fundamental research, but the main object of the forester, now a research scientist, is the application of the results of fundamental research and of the instructions issued by specialized institutes, and the study of the conditions for generalizing the results obtained through a particular experiment.

Besonderer Fall des Diplomforstwirts

Zusammenfassung

Die wissenschaftlichen Forschungen haben seit einem Viertaljahrhundert einen ungeheueren Aufschwung in allen Gebieten genommen.

Die waldbaulichen Fächer, die durch ihre Art hätten von einer weitgehenden Tradition behaftet erscheinen können, haben in wichtiger Weise an

dieser prächtigen wissenschaftlichen und technischen Bewegung teilgenommen : die Ökologie ist der wissenschaftliche Grundstein des Waldbaus, der waldbaulichen Genetik, usw. geworden.

Die landbaulichen Forschungen haben eine etwas besondere Eigenheit, die von der Eigenart des Objektes selbst herrührt : Langlebigkeit, Grösse der Bäume, Wiederkehr der Ernte, Fehle der Bodenbearbeitung (mit Ausnahme beim Aufforsten), Fehlen der Düngergaben. In gewisser Hinsicht sind eine Ausbildung, Methoden und manchmal Spezialtechniken notwendig.

Die waldbauliche Forschung besteht hauptsächlich aus der angewandten Forschung. Die spezialisierten waldbaulichen Institute können in gewissem Masse an der Grundforschung teilhaben, aber die Hauptaufgabe des Diplomförsters, der Forscher geworden ist, ist es, die Ergebnisse der fundamentalen Studien anzuwenden, die Direktiven der spezialisierten Institute zu befolgen, die Bedingungen einer Verallgemeinerung der Ergebnisse, die man in einem bestimmten Versuch gefunden hat, zu untersuchen.

Les systèmes de culture et leur évolution en Afrique noire

par F.-L. Hendrickx
Ing. Agr. A.I.Gx. - Lic. Sci. U.L.B.
Professeur de phytotechnie à l'Université officielle du Congo

Notre époque marque l'éveil des peuples sous développés et plus particulièrement de ceux de l'Afrique. Les problèmes avec lesquels les nouveaux pays sont confrontés, quand ils accèdent à l'indépendance, sont à bien des égards plus importants et plus urgents à résoudre que ceux qui se posent ailleurs dans le monde. Ils proviennent du degré de civilisation auquel les jeunes états se trouvent encore et du retard que l'immense majorité de leur population accuse vis à vis des autres peuples.

L'Afrique noire est entièrement comprise dans les régions tropicales et subtropicales. Celles-ci couvrent à la surface du globe 60 millions de kilomètres carrés et représentent la moitié de la superficie des terres émergées. Leur population est évaluée à environ 700 millions d'habitants, soit le tiers environ de celle du globe. L'agriculture qui y est pratiquée joue un rôle important, non seulement pour l'alimentation des populations qui y vivent, mais également pour celle des pays tempérés. De plus elle intervient dans la fourniture des matières premières nécessaires aux industries de ceux-ci. A côté de son rôle producteur, il ne faut pas perdre de vue celui que jouent ses habitants comme consommateurs de produits manufacturés. Toute amélioration de l'agriculture des pays chauds influencera finalement non seulement le « standard » de vie du demi milliard d'agriculteurs qui les habite, mais elle se répercutera favorablement sur l'économie mondiale.

Dans un monde dont la population croissante inquiète les démographes, qui estiment que la terre, dans l'état actuel de l'agriculture, ne peut assurer plus que la subsistance de 50.000 bouches nouvelles par jour, les régions tropicales et subtropicales seront amenées à jouer un rôle croissant comme réservoir de ressources naturelles. En ce qui concerne plus spécialement l'Afrique, celle-ci est un des derniers immenses espaces du globe vers lequel le monde peut se tourner pour son approvisionnement en produits alimentaires et en matières premières pour l'industrie. D'où l'importance de l'enjeu qu'elle représente.

Les pays qui détiennent des richesses ont une responsabilité vis à vis du restant du monde. Ils ne peuvent les laisser en friche, alors

que 65% de la population du monde ne sont pas nourris à leur faim. Ils ont le devoir de tout mettre en œuvre pour une exploitation rationnelle de celles-ci. S'ils ne le font pas, ils faillissent à leur devoir en tant que nation. Ils pourront un jour être amenés à rendre compte de l'usage qu'ils ont fait de la terre. Par contre les autres pays, qui sont en mesure de le faire, ont l'obligation de les aider dans cette mise en valeur, en leur fournissant les moyens de la réaliser, soit par une aide technique directe, soit par l'octroi de moyens financiers.

La comparaison entre les divers systèmes de culture pratiqués dans le monde permet de définir l'agriculture de l'Afrique noire comme une agriculture primitive, basée sur la houe, ignorant la charrue et les champs permanents. Elle ne comporte, sauf exceptions, ni apport d'engrais, ni irrigation systématique. L'agriculture traditionnelle des régions qui nous occupent ne dépasse pratiquement jamais le niveau de l'auto-subsistance.

Alors que le sol est généralement médiocre et sa destructibilité grande, l'Africain se soucie fort peu de la conservation de celui-ci.

L'érosion et les feux de brousse sont des phénomènes courants et, sauf exceptions, aucune mesure n'est prise pour les prévenir ou les enrayer.

Enfin dans les sociétés africaines la propriété individuelle n'existe pas en règle générale. La terre appartient collectivement à un groupe humain. Chaque individu ou chaque famille cultive une partie de la terre du groupe, mais son travail ne lui donne droit qu'à la récolte qu'il en retire. La terre reste donc propriété collective. Dans la plupart des cas l'attribution des terres à cultiver par chaque individu est faite par le chef de groupe. Les pâturages, terrains de chasse, lieux de pêche etc, sont également propriété collective. La possibilité n'existe donc pas pour le cultivateur progressiste de profiter de l'effort qu'il a consenti pour améliorer le champ qui a été mis à sa disposition.

On peut donc dire qu'en Afrique noire, et pour nous limiter à l'agriculture traditionnelle, les systèmes de culture pratiqués sont du type incomplet et extensif. Ils ne permettent pas la culture de la terre d'une façon continue et ont recours à la jachère improductive. De même le système pastoral, là où il existe, est également extensif et repose sur une base institutionnelle plutôt qu'économique. C'est le cas chez les Watutsi, les Bahema, les Peuhls, les Massai etc. D'autre part, il n'y a pas de connexion entre l'agriculture et l'élevage.

La forme la plus connue de ces types incomplets d'agriculture, qui relèvent du nomadisme agricole, est le système « bantou ». Celui-ci, bien adapté aux sols généralement pauvres des zones recouvertes par la forêt équatoriale ombrophile, se pratique là où la densité de la population est faible. Il se retouve chez tous les peuples habitant les

régions forestières tropicales, même en Asie. Il consiste essentiellement en une alternance de courtes périodes de culture associées à de longues périodes de jachère naturelle. La préparation et les façons culturales que subit le sol sont réduites à un minimum. L'incinération de la matière organique fournie par la végétation primitive est de règle. Après la culture, le sol est recolonisé par la végétation spontanée à qui est laissé le soin de lui restituer sa fertilité, ce qui demande généralement de nombreuses années. Aussi la surface occupée par la jachère est-elle considérable comparée à celle sous culture. Il est donc indispensable que l'on puisse disposer de réserves importantes de terres. Le fait que les champs se déplacent continuellement a pour résultat l'instabilité de l'exploitation agricole. Ce déplacement est d'ailleurs l'origine du terme « nomadisme agricole ».

Un point important du système est que la régénération du sol se fait en dehors de l'intervention de l'homme. Dans les étapes que l'évolution humaine a parcourues le nomadisme agricole représente celle où l'homme n'a pas encore la jachère sous contrôle.

Les améliorations qui lui ont été apportées, grâce aux remarquables travaux des chercheurs de l'Inéac et des agronomes des divers gouvernements qui avaient des intérêts et des responsabilités en Afrique noire, ont permis d'y intégrer des spéculations à caractère économique, présentant une valeur d'échange et d'assurer une certaine stabilité de l'exploitation rurale. Il reste malgré tout extensif. Il est bien adapté à l'économie d'un pays sans élevage. Il a permis de stabiliser un cultivateur pratiquant une culture itinérante. Malgré les grandes surfaces de terrain qu'il nécessite, il avait sa raison d'être et sa justification. Malheureusement il est incompatible avec la différenciation de la population en une partie rurale et une partie urbaine. Il s'oppose à l'urbanisation et par ce fait même à l'évolution normale des populations. Il semble bien que nous sommes arrivés à un tournant en Afrique et qu'il devra faire place à d'autres systèmes adaptés aux conditions nouvelles du continent.

Dans les régions subéquatoriales ou subtropicales, là où la forêt fait place à la savane, soit qu'elle ait été détruite, soit que la savane constitue la végétation climacique, la transposition de la méthode utilisée en région forestière a donné lieu à la culture en bandes. La jachère est semi-ligneuse ou herbacée et de bons résultats ont été obtenus en utilisant certaines graminées. Une tendance à la prise sous contrôle de la jachère par l'homme se manifeste donc. Il faut d'autre part souligner le fait que le climat et le sol de ces régions présentent dans l'ensemble des conditions de culture plus favorables que celles qui se rencontrent dans les régions tropicales. La décomposition de l'humus

y est moins rapide et il se reconstitue plus facilement. Dans les régions d'altitude, l'insolation et la pluviosité sont également plus favorables à la production agricole. Enfin l'existence de bétail est un facteur non négligeable et permet d'espérer une association de l'élevage et de l'agriculture.

Des techniques agricoles dénotant une certaine évolution ont été signalées dans ces régions et dénotent une agriculture possédant des possibilités intéressantes. C'est ainsi que la culture sur terrasses existe au Ruanda et en Uganda et que l'irrigation est connue à Madagascar.

Dans les terrains soumis à des crues saisonnières divers types d'agriculture incomplète peuvent se présenter. La culture peut se faire pendant la saison des pluies sur des billons qui dépassent le niveau maximum atteint par les eaux et qui sont abandonnés à une jachère herbacée de courte durée après le retrait des eaux. C'est ainsi que se pratique la culture du sorgho au Moyen-Chari. Ailleurs c'est la culture en période de décrue qui est en faveur. L'adaptation des modes de culture est faite de telle sorte que le semis est effectué dès que les sols sont libérés de la crue et que l'on peut procéder à la récolte avant la crue suivante au cours de laquelle le sol est laissé au repos. Cette culture est de règle le long des cours d'eau et au bord des lacs à niveau variable : vallée du Niger, Nord-Soudan, vallée du Sénégal, Nord-Cameroun, Tchad. A cette culture de décrue peuvent se rattacher les cultures de saison sèche, effectuées sur ados en marais, telles qu'elles se pratiquent au Ruanda-Urundi et en Uganda dans le district du Kigezi. Durant la période de repos la terre est sous eau et subit l'action de fermentations anaérobies.

Le tableau sommaire qui vient d'être brossé ici serait incomplet s'il ne mentionnait certaines pratiques qui ont été en honneur en Europe dans le passé. Nous savons qu'en Afrique noire l'agriculture est généralement basée sur le brûlis et l'absence de travail du sol, le semis suivant immédiatement le nettoyage du champ. On rencontre cependant certaines méthodes où la préparation du sol devient importante. C'est notamment le cas dez rizières, terres souvent lourdes, plus difficiles à pénétrer et parfois envahies par des mauvaises herbes qu'il est malaisé d'éliminer. Dans ce cas on pratique au Soudan et au Sénégal une façon culturale qui peut s'identifier à un écobuage. A l'aide d'une houe à large fer et à manche courbe, des mottes de terre sont retournées sur les herbes ou les débris végétaux rassemblés en ligne. Par après le feu est mis à la matière organique dont la combustion est facilitée par de véritables cheminées ménagées de part en part.

A cette pratique peut se rattacher le système rappelé « chitemene » en Rhodésie du Nord et dans le sud du Tanganyika Territory. C'est une sorte d'essartage consistant à concentrer sur un espace réduit

toute la matière ligneuse d'une surface étendue et d'y mettre le feu. Les cendres qui résultent de la combustion enrichissent localement le sol et permettent sa mise en culture.

Ces exemples montrent que le cultivateur africain n'est pas nécessairement un primitif. Là où les conditions autorisent l'obtention de hauts rendements avec une faible dépense d'énergie, il se contente d'un système d'agriculture simple. Là au contraire où le climat est moins favorable à la production agricole et où le sol est moins propice, le paysan africain a élaboré des systèmes d'agriculture plus compliqués. Il est vrai qu'il ne s'est jamais préoccupé de la conservation du sol, mais cela se comprend puisque celui-ci ne lui appartient qu'à titre précaire. On peut donc dire que le résultat atteint était le maximum que ses connaissances et son organisation sociale lui permettaient d'obtenir.

Les systèmes incomplets d'agriculture que nous venons de passer en revue sont le propre des peuples nomades ou pseudo-nomades. Ils ne peuvent assurer qu'une économie de subsistance, mal outillée, dispendieuse d'énergie, de temps et de terres.

L'économie d'échange ne prend son plein essor qu'avec l'apparition de systèmes complets d'agriculture, qui vont généralement de pair avec l'agriculture intensive. Dans ceux-ci toutes les opérations culturales sont conçues et exécutées de façon à assurer la continuité des cultures sur un même sol. Les systèmes complets d'agriculture sont les seuls qui permettent le plein épanouissement des sociétés humaines.

Nous savons que l'humanité, dans son évolution, est passée par des stades successifs. Jusqu'au Néolithique, ce fut l'économie de rapine, pratiquée par des sociétés errantes, dont le mode de vie était basé sur la chasse, la pêche, la cueillette ou le ramassage. Cette économie, qui n'est compatible qu'avec une extrême dispersion des populations, se retrouve encore chez les Négrilles, les Bochimans et les Australoïdes.

Le Néolithique marque une révolution dans et état de choses. Il est caractérisé, non seulement par un outillage plus raffiné, mais également par la culture du sol, l'utilisation de la houe, la domestication des animaux considérés comme des réserves alimentaires ou des auxiliaires pour la chasse, la construction de huttes, l'invention de la poterie. L'économie de rapine fait place à une économie de production. Nous voyons à ce moment intervenir pour la première fois des éléments de prévoyance. Une partie de la récolte est réservée comme semence pour une production future. Les animaux les mieux conformés ou les plus prolifiques sont utilisés comme reproducteurs au lieu d'être abattus. La densité de la population fait un bond en avant. Elle passe de 1 à 6 habitants au km^2.

Une nouvelle révolution sociale marque le début de la période historique, il y a environ 5.000 ans. C'est la révolution urbaine. Elle est caractérisée par un ensemble de faits dont les plus importants sont l'agriculture sédentaire et le remplacement de l'économie de subsistance par l'économie d'échange. Celle-ci permet la différenciation de la société en une partie urbaine et une partie rurale, mutuellement complémentaires. C'est de cette époque que date l'invention de l'écriture, du calendrier, de la métallurgie, de la monnaie et de la roue.

L'énorme pas en avant que constitue l'agriculture sédentaire, qui postule la fertilité permanente des terres, fut rendu possible par la pratique de l'assolement, de la fumure, de l'irrigation, de l'utilisation des animaux de trait et par l'amélioration du bien-fonds. Les besoins alimentaires étant satisfaits, une partie de la population, se libérant de la glèbe, put alors se consacrer à d'autres activités. Il en résulta un groupement des populations en un ensemble harmonieux où chacun trouve sa place suivant ses dons, ses facultés et ses capacités. L'homme, assuré d'une indépendance relative vis à vis de la nature, peut donner libre cours à ce qu'il a de meilleur en lui. La vie stable, résultant d'un système d'agriculture complet, lui offre plus de loisirs pour la réflexion, elle permet l'épanouissement d'une culture artistique et scientifique, autorise l'établissement d'institutions politiques et administratives, favorise une marche ascendante dans le domaine économique, intellectuel et moral. Le complexe qui en est l'aboutissement forme une civilisation.

La révolution urbaine n'a pu, au début, s'opérer qu'à quelques endroits privilégiés où étaient réunies des conditions spéciales assurant au sol une culture permanente sans apport de fumure, ni recours à la jachère. Ces circonstances n'existaient que dans les vallées fertiles de certains fleuves soumises à des inondations saisonnières : le Nil, l'Euphrate, l'Indus. Celles-ci nous offrent des exemples de l'épanouissement d'une civilisation avancée dès les temps les plus reculés. Par après l'utilisation de la fumure, le recours à une jachère courte, elle-même comprise dans l'assolement, permit à d'autres pays de profiter de la révolution urbaine. Dans certaines régions ce stade n'a été atteint que beaucoup plus tard. Il a été obtenu grâce au travail acharné, à l'observation attentive, aux essais répétés de générations d'agriculteurs qui, guidés par les chercheurs et les techniciens de la science agronomique, ont fait évoluer les techniques agricoles vers des systèmes de culture complets, bien adaptés aux besoins de l'homme et au milieu dans lequel il vit.

En Afrique noire, ce stade n'est pas encore atteint, ce sera la tâche fondamentale des jeunes états qui ont accédé récemment à l'indépen-

dance que de réaliser la révolution urbaine s'ils désirent s'assurer une place honorable parmi les autres peuples et s'ils ne veulent plus être considérés comme des pays sous développés. Il leur faudra agir vite et je ne vois pas bien comment ils atteindront leur but s'ils ne peuvent compter sur une aide efficace des nations plus évoluées qu'eux et dont certaines ont déjà franchi l'étape suivante, qui est celle de la révolution industrielle.

Il va de soi que le rôle que l'ingénieur agronome aura à jouer dans cette promotion humaine sera très important. Dans sa campagne contre le nomadisme agricole différentes voies s'offrent à lui. Elles ont déjà donné lieu à de nombreux travaux, mais il est indispensable que ce mouvement soit poursuivi et intensifié. Elles relèvent de l'allongement des cycles de culture, de la suppression de jachères ou de leur remplacement par des jachères productives dont l'élevage pourrait tirer parti par l'association des spéculations végétales et animales. L'utilisation de la fumure minérale, qui n'en est encore qu'à ses débuts en Afrique, aura également son mot à dire dans l'évolution des systèmes de culture, ainsi que la pratique de l'irrigation là où les circonstances le permettent.

Toutefois le rôle de l'ingénieur agronome, pour important qu'il est, n'est pas exclusif. La suppression du nomadisme agricole relève de l'acculturation et comprend un ensemble complexe de phénomènes sociaux, anthropologiques, démographiques, psychologiques et économiques. C'est donc un problème humain, qui ne peut être résolu que par une étroite collaboration interdisciplinaire. De plus il convient d'être excessivement prudent si l'on ne veut pas aller au devant d'échecs et exposer à des catastrophes les populations qu'on veut faire progresser.

Dans la lutte contre le nomadisme agricole, il convient que l'agronome soit soigneusement préparé en vue d'assurer une mise en valeur toujours plus systématique et plus efficiente des ressources immenses et à peine entamées que représente l'Afrique noire. Il doit avoir une connaissance approfondie des sciences de base qui président à sa formation. L'enseignement dont il a bénéficié doit avoir fait de lui un homme capable de comprendre la diversité et la complexité des problèmes qu'il aura à résoudre, de les dominer et d'en réaliser la synthèse.

Former en nombre croissant des ingénieurs agronomes soigneusement préparés à cette tâche est le rôle des Instituts agronomiques et des Facultés d'agronomie des nouvelles Universités africaines.

Résumé

Le plus important problème avec lequel sont confrontés les peuples de l'Afrique noire qui accèdent à l'indépendance est celui de l'évolution de leur agriculture traditionnelle. Celle-ci doit passer du stade de l'agriculture de subsistance vers celle d'une agriculture de production.

L'augmentation de la population du monde pose de son côté des problèmes d'alimentation et de production de matières premières. L'Afrique aura son rôle à jouer dans cette question, car elle est, de tous les continents, celui qui offre encore des possibilité énormes.

Les systèmes de culture traditionnels pratiqués en Afrique noire sont passés en revue. Ils appartiennent tous aux types incomplets de culture. Ils comportent une jachère improductive que les agronomes, qui se sont occupés de la mise en valeur de ces vastes territoires, se sont efforcés de réduire au minimum. Ils sont dispendieux d'énergie, de temps et de terres. Ils dénotent un stade d'évolution des populations qui doit tôt ou tard être dépassé si celles-ci veulent prendre leur plein épanouissement et atteindre un stade élevé de civilisation.

Seuls des systèmes complets de culture leur permettront d'atteindre ce but. Le rôle que l'agronome aura à jouer dans cette évolution sera donc primordial.

Native farming systems and their development in Africa

Summary

The most important problem facing the African people reaching independence is the evolution of their traditional agriculture, which has to pass from the subsistance to the production stage.

The increase of the world population brings out the problem of more food and raw material production. Africa will have to play its part, as this continent still has enormous possibilities to offer.

Traditional farming systems practised in Africa are reviewed : all are incomplete. They include an improductive fallow, which the agriculturists, engaged in valorizing those vast territories, have endeavoured to reduce to a minimum. These systems are wasteful of energy, time and land. They denote an evolutionary stage which must be overcome sooner or later if the populations are to develop fully and attain a high level of civilisation.

Only complete farming systems will enable them to reach this goal. The task of the agriculturist in this process will therefore be of primary importance.

Anbausysteme und ihre Entwicklung im schwarzen Afrika

Zusammenfassung

Das wichtigste Problem, dem die Völker des schwarzen Afrikas, die die Unabhängigkeit bekommen, gegenüber stehen, ist die Entwicklung ihrer traditionellen Landwirtschaft. Diese muss sich vom Stadium der Unterhaltslandwirtschaft zum Stadium der Erzeugungslandwirtschaft hoch arbeiten.

Die Bevölkerungszunahme in der Welt stellt seinerseits Probleme der Ernährung und der Erzeugung von Rohstoffen. Afrika wird seine Rolle in diesen Fragen zu spielen haben, denn dieses ist von allen Kontinenten derjenige, der noch aussergewöhnliche Möglichkeiten bietet.

Die Systeme der traditionellen Bearbeitung, die im schwarzen Afrika angewendet werden, werden besprochen. Sie gehören alle den unvollständigen Bearbeitungsmethoden an. Sie enthalten eine unproduktive Brache, die die Diplomlandwirte, die sich mit der Inkulturnahme dieser weiten Landstriche befasst haben, sich bemüht haben, auf ein Mindestmass zu reduzieren. Diese benötigen viel Energie-, Zeit- und Landverschwendung. Sie deuten ein Entwicklungsstadium dieser Bevölkerungen an, das früher oder später überholt werden muss, falls diese ihre volle Entfaltung nehmen und einen hohen Zivilisationsgrad erreichen wollen.

Nur die vollkommenen Anbausysteme werden es ihnen erlauben, dieses Ziel zu erreichen. Die Rolle, die der Diplomlandwirt in dieser Entwicklung zu spielen haben wird, wird äusserst wichtig sein.

Ingénieur agronome et Recherches zootechniques

par Jacques Delage
Ingénieur Agronome
Maître de Conférences à l'Institut National Agronomique, Paris (France)

Production animale et zootechnie

L'élévation progressive du niveau de vie s'accompagne d'un accroissement de la consommation de produits animaux et met l'accent sur la nécessité de développer et d'intensifier ce secteur de la production agricole. L'agronome recherche les méthodes susceptibles de satisfaire à cette tendance et il se tourne alors vers la zootechnie.

Les techniques nouvelles sont efficaces dans la mesure où elles améliorent les productions en quantité et en qualité, en même temps qu'elles augmentent leur rentabilité et font face aux impératifs de main d'œuvre. Elles doivent conduire à fournir des denrées qui répondent aux besoins et aux exigences du consommateur en tenant compte de son goût et des répercussions éventuelles sur sa santé.

Mais, une production animale particulière est rarement isolée sur une exploitation agricole, celle-ci constitue un ensemble technique, économique et humain qu'il n'est pratiquement pas possible de dissocier en ses différents éléments. Les modifications techniques appliquées à une production animale déterminée auront souvent des répercussions sur d'autres postes. C'est finalement l'analyse économique de l'ensemble de l'exploitation qui permettra d'éprouver leur efficacité.

L'animal est un moyen de production qui s'intègre dans un ensemble, et la zootechnie s'inscrit dans les disciplines agronomiques en demandant à ses spécialistes de posséder une formation correspondante.

Des facteurs de développement des productions animales

Le développement des productions animales est subordonné à la situation économique qui leur est réservée et aux connaissances des hommes qui s'y consacrent. Il dépend par suite, pour une large part, de l'ampleur des efforts de vulgarisation. Mais celle-ci est complexe, son efficacité est subordonnée tant à la qualité des hommes qui en sont chargés qu'à l'aptitude à en bénéficier de ceux auprès de qui elle est pratiquée ; elle ne trouvera son plein effet que si elle s'appuie sur des bases solides adaptées aux conditions régionales, elle se tourne alors inéluctablement vers la Recherche Zootechnique.

La recherche

Dans quelle mesure la recherche zootechnique est-elle conduite à faire appel à des agronomes et quelle place ces derniers sont-ils destinés à y occuper ?

L'examen de ses objectifs et de ses méthodes permet de répondre à ces questions.

Ses objectifs.

Le but de la recherche zootechnique est de faire bénéficier l'élevage des connaissances scientifiques en vue d'accroître la rentabilité des productions animales et d'améliorer la qualité des produits animaux destinés à la consommation humaine et à l'utilisation industrielle.

Les travaux entrepris sont souvent guidés par des intérêts économiques. Ils demandent à la base à être conçus dans un esprit agronomique en se situant près du fait agricole. Quelques exemples permettent aisément d'illustrer cette thèse :

— L'élevage des ruminants est souvent justifié par la transformation de fourrages grossiers en viande et en lait consommables par l'homme. La majeure partie du coût de production de ces denrées est imputable aux frais d'alimentation. Les unités nutritives les moins onéreuses sont produites sur l'exploitation sous forme de fourrages consommés frais ou conservés. L'accroissement des disponibilités fourragères ainsi produites s'accompagne d'une réduction des prix de revient. Des progrès considérables ont été réalisés dans ce but, ils ont conduit à une intensification de la production des prairies permanente, temporaire ou artificielle, mais l'utilisation par les animaux des fourrages obtenus dans le cadre de cette nécessaire « révolution fourragère » pose des problèmes complexes et ouvre un vaste champ de recherche qu'il convient d'aborder en les plaçant dans leur contexte agronomique.

— Le marché exige certaines qualités et des types définis de viandes de porcs, de bovins ou de volailles. Les impératifs économiques conduisent souvent l'éleveur à rechercher des cycles courts de production, le problème se pose alors au stade de la recherche de proposer des méthodes qui permettent à la fois à l'éleveur de trouver le juste revenu auquel il est en droit de prétendre et au consommateur d'être ravitaillé en produits capables de satisfaire son goût et sa santé.

— L'extension de l'insémination artificielle conduit la recherche zootechnique à intensifier ses études dans le domaine du choix des reproducteurs et donne un caractère d'urgente actualité aux tra-

vaux poursuivis dans celui de la physiologie de la reproduction et de la conservation de la semence.

— Sur le plan particulier de l'élevage porcin, on sait combien la fécondité et la prolificité des truies constituent un élément primordial de la rentabilité des troupeaux de porcs. En se consacrant à l'étude des facteurs d'amélioration de ces caractères la recherche zootechnique correspond à un besoin.

Ces exemples montrent comment des problèmes rencontrés en élevage font naître des orientations de recherche, lesquelles supposent, au départ, de la part de ceux qui ont la charge de les promouvoir, une conception agronomique. Il est naturellement inutile de souligner, qu'à l'inverse, des travaux de recherche entrepris sans souci d'application se sont montrés ultérieurement particulièrement fructueux sur le plan de la pratique, l'histoire des sciences nous en fournit une abondante illustration. Mais nous avons voulu seulement ici indiquer le rôle de la recherche face aux exigences actuelles de l'élevage pour insister sur l'intérêt d'une conception agronomique qui ne peut que rapprocher utilement le secteur de la pratique de celui de la recherche.

Ses méthodes.

Les connaissances scientifiques actuelles ne permettent pas toujours de résoudre les problèmes posés et on est alors conduit à des recherches fondamentales.

Il a été distingué, en matière de recherche, un secteur fondamental et un secteur appliqué. En fait, pour l'agronome, ces secteurs ne s'opposent pas mais ils interfèrent. Dans la mesure où le problème à résoudre peut trouver une solution dans l'application des connaissances scientifiques, l'expérimentation constitue la voie habituelle de recherche, mais souvent les problèmes évoqués conduisent vers un domaine où les connaissances fondamentales sont encore confuses ou imparfaites et il faut alors s'attacher à l'étude des mécanismes en cause dont seule la connaissance sera à long terme susceptible de fournir des données applicables dans des conditions différentes d'exploitation.

Aussi, la recherche zootechnique doit-elle bien souvent s'attacher à la recherche fondamentale en même temps qu'elle doit être en mesure de fournir, à plus ou moins court terme, des solutions aux problèmes posés par une situation en continuelle évolution.

En prenant quelques exemples dans les domaines de l'alimentation, de la génétique et de la reproduction des animaux, il est aisé de traduire cette évolution fondamentale de la recherche zootechnique vers un développement des études intéressant les mécanismes responsables.

La connaissance de ceux-ci est finalement seule susceptible de

permettre la déduction de règles dont la valeur, et par conséquent l'application, présentent un caractère général.

La croissance des animaux intéresse tous les élevages. L'étude des facteurs génétiques, alimentaires et d'ambiance qui en sont responsables est de ce fait primordiale. Elle intéresse non seulement les vitesses de croissance et d'engraissement mais aussi la qualité des produits fournis sur le marché. L'analyse de l'effet des différents facteurs et de leur interférence sur la seule croissance pondérale est maintenant dépassée. La réponse aux problèmes posés suppose une analyse préalable des mécanismes physiologiques et biochimiques de la croissance, de la variation de la composition des tissus, de la croissance différentielle des différentes parties du corps, de l'évolution de la croissance pondérale et des phénomènes de croissance compensatrice. La production de viande de qualité à partir d'animaux jeunes ne peut trouver de solution qu'à l'issue de telles études.

La nutrition et l'alimentation des ruminants est dominée par l'étude des phénomènes microbiens dans le tube digestif et plus spécialement dans la panse. Qu'il s'agisse de résoudre les problèmes posés par la consommation d'herbe jeune à faible taux de matières cellulosiques, à forte teneur en matières azotées et en eau, ou d'envisager certains aspects de l'influence alimentaire sur la secrétion de matière grasse par les ruminants femelles, la voie normale des études passe par l'analyse des fermentations au niveau du rumen. Une meilleure compréhension de ces mécanismes microbiens et l'analyse des facteurs les modifiant est certainement de nature à faire ultérieurement progresser l'alimentation des ruminants.

Les matières grasses posent actuellement sur le plan de la production et sur celui de la consommation des problèmes ardus à résoudre. Les répercussions de leur consommation sur la santé de l'homme sont souvent évoquées. L'analyse des facteurs influençant leur production et leur composition mérite d'être poursuivie. Elle suppose une étude approfondie des mécanismes de leur utilisation et de leur transformation par les animaux.

L'emploi des antibiotiques à faible dose s'est hâtivement généralisé dans l'alimentation des porcs et des volailles. On en a constaté expérimentalement les heureux effets sur la croissance, la mortalité et, éventuellement, les indices de consommation. Pour définir les conditions et les limites d'emploi ainsi que pour en envisager toutes les répercussions, des études fondamentales ont été entreprises sur leur rôle. Déjà leur influence sur la flore digestive tendant à réduire la dégradation d'une partie des matières azotées alimentaires apporte quelque lumière sur les mécanismes en cause.

L'intensification fourragère tend à accroître les disponibilités en aliments grossiers. Il importe d'en fixer la limite de consommation afin de préciser quel niveau de production, de lait par exemple, peut être assuré par les seuls fourrages produits sur l'exploitation. Le comportement alimentaire retient alors l'attention. Des normes maxima de consommation sont dégagées, mais quels sont les mécanismes mis en œuvre ? Et le chercheur se tourne vers les échanges énergétiques accompagnant les repas, retrouvant un terrain de recherche fondamentale.

Dans le domaine de l'amélioration génétique, des directives doivent être dégagées pour contrôler les performances, choisir les reproducteurs et orienter les accouplements en race pure ou en croisements.

Le chercheur aborde ces problèmes sous différents aspects qui le conduisent le plus souvent à une étude des mécanismes intéressés. Certes, dans ce domaine la pratique devance souvent la science, mais celle-ci entreprend l'analyse des phénomènes et peut, si elle atteint son but, proposer des méthodes qui permettent d'obtenir des progrès plus rapidement. Il faut d'abord définir les caractères à améliorer et souvent les décomposer en des éléments dont la signification se rapproche des phénomènes héréditaires. Ainsi, le généticien avicole substitue à la notion de ponte totale la persistance, la précocité de ponte, l'intensité, la couvaison et la pause d'hiver.

Dans une deuxième étape, il est pratiqué une analyse détaillée des causes de variation des caractères envisagés au sein des populations étudiées.

Cette analyse permet de préciser l'influence des différences héréditaires existant entre les animaux, les modes d'expression des gènes et de prévoir la part des différences individuelles susceptible d'être transmise aux descendants avec un maximum de probabilité.

Il est alors possible de prévoir le gain génétique que l'on peut espérer obtenir suivant les différents modes de choix des reproducteurs. On saura, par exemple, qu'en général la simple sélection massale est relativement efficace pour la vitesse de croissance, pour le poids des œufs ou la couleur de leur coquille, alors que la sélection généalogique ou familiale est à préconiser pour des caractères tels que la production du lait, la ponte ou la fécondité.

La détermination précoce des aptitudes est un autre aspect des recherches génétiques. Il est facile d'en comprendre l'intérêt puisqu'elle pourrait permettre d'apprécier la valeur d'un jeune animal pour une production qu'il n'est susceptible de produire qu'à un âge plus avancé, telles que la production du lait ou celle des œufs. La voie normale d'approche de ces études repose sur l'étude de liens physiologiques ou génétiques pouvant exister entre le caractère principal à étudier et des critères secondaires que l'on tente d'y rattacher. Là encore, seule

la connaissance des mécanismes intéressés est susceptible de fournir des solutions.

En se tournant vers les études consacrées à la reproduction des animaux, il est aisé de comprendre combien dans ce secteur les recherches fondamentales de physiologie poursuivies sur les mammifères et les oiseaux domestiques sont indispensables au progrès. On a trop souvent été amené, faute de travaux correspondants, à essayer de déduire des études poursuivies sur des petits animaux de laboratoire les grandes lignes du fonctionnement des animaux intéressant l'élevage.

Une orientation nouvelle s'impose progressivement qui s'attache à leur étude directe. La gamétogénèse, les facteurs intéressant la production de la semence, la conservation de celle-ci, les régulations hormonales des femelles des différentes espèces, les transplantations d'ovules fécondés et la production artificielle de naissances gémellaires chez les bovins sont autant de sujets de recherches fondamentales dont les résultats sont ultérieurement susceptibles d'avoir d'heureuses répercussions sur l'amélioration de l'économie des productions.

Mais, indépendamment de ces travaux dirigés vers une recherche fondamentale, la recherche zootechnique se doit de répondre à plus ou moins court terme à des problèmes pour lesquels des solutions peuvent être proposées. Elle entreprend alors des expérimentations. Celles-ci vérifient, dans des conditions contrôlées mais normales d'élevage, des règles ou des lois, ou étudient un problème d'ensemble sans toujours encore en saisir tous les rouages et tous les mécanismes. Les résultats obtenus permettent d'émettre des recommandations qui sont reprises et adaptées par la vulgarisation. En alimentation, par exemple, on compare, dans ce cadre, des régimes différents pour préciser l'intérêt de tel ou tel aliment, déduire des recommandations sur les besoins alimentaires ou orienter vers une méthode de conservation des fourrages. On compare des programmes différents d'alimentation et d'élevage pour dégager les méthodes à préconiser en vue d'améliorer l'économie des productions et la qualité des produits. Mais souvent, à l'occasion de ces études, le chercheur est en présence de faits expérimentaux dont l'explication n'apparaît pas et il se tourne à nouveau vers une recherche de nature plus fondamentale.

Dans tous les cas, un esprit d'analyse, un sens critique, de la persévérance et une profonde honnêteté intellectuelle sont exigés du chercheur.

La spécialisation au sein de la recherche

La réalisation des conditions optima de production dépend de l'animal et du milieu auquel il est soumis. Aussi, la recherche zootechnique présente-t-elle un champ étendu d'activités comportant des études

s'intéressant à l'amélioration génétique, la physiologie, la nutrition et l'alimentation, la bioclimatologie et les conditions d'élevage des différentes espèces. Des relations étroites doivent, en outre, s'établir avec des secteurs voisins tels que la pathologie et la parasitologie, la technologie des produits animaux, l'économie.

La complexité des problèmes, l'ampleur des connaissances se rapportant à la fois aux sciences fondamentales qui se situent en amont et aux techniques à mettre en œuvre, conduisent obligatoirement à une spécialisation et, par suite, à la formation d'équipes dont les membres pourront appartenir à des disciplines différentes et même se consacrer à des productions différentes.

Des observations précédemment formulées sur l'évolution de la nature des recherches découle clairement la nécessité d'une spécialisation qui touche à la fois le secteur scientifique et les techniques à mettre en œuvre.

Le chercheur qui s'intéresse à la nutrition et à l'alimentation devient biochimiste lorsqu'il veut dégager des tests physico-chimiques permettant de prévoir la valeur des aliments pour les différentes espèces animales, ou quand il se propose d'étudier « in vivo » les conditions d'utilisation des différents principes alimentaires. Les progrès dans ce domaine sont souvent liés à l'acquisition de nouvelles méthodes analytiques. Une meilleure estimation des composants azotés des aliments, une appréciation plus précise des différents constituants glucidiques des fourrages sont autant d'éléments qui permettent une meilleure appréciation de l'efficacité alimentaire des aliments.

Les études de nutrition font appel à la bactériologie lorsque les phénomènes microbiens du tube digestif ou ceux qui accompagnent la conservation par ensilage sont envisagés. De son côté, le nutritionniste qui met au point des régimes pour les jeunes animaux et qui s'attache à en étudier les répercussions sur le développement du tube digestif, se tourne naturellement vers l'anatomie, voire l'histologie au même titre que le fait dans un autre cadre le spécialiste des viandes.

Le généticien s'appuie de plus en plus sur l'algèbre moderne et ses applications. L'analyse des causes de variation qui représente une part importante de son travail le conduit naturellement vers le calcul matriciel et son matériel de travail devient la mécanographie. Mais l'analyse fine des mécanismes en cause le ramène à la génétique physiologique et l'étude de certains problèmes tels que ceux intéressant la sexualité le situe au centre même de la biologie.

Dans tous les cas la spécialisation s'impose, elle se situe au niveau de la discipline scientifique et elle se traduit dans les techniques mises en œuvre pour la poursuite des recherches. L'objectif final ne doit cependant pas être perdu de vue et toute l'équipe travaille pour con-

tribuer au progrès de l'agriculture. Ces études spécialisées conduisent à des résultats partiels qu'il convient de réintégrer dans un ensemble afin de permettre avec un esprit de synthèse d'aboutir à des recommandations cohérentes dans un cadre agronomique.

La place de l'agronome

Quelle est la place de l'agronome dans cette recherche zootechnique pour laquelle nous avons montré l'existence fréquente d'une conception agronomique dans le choix des études, la tendance vers une spécialisation de plus en plus poussée pour une analyse des phénomènes et leur approche sous des angles différents, devant aboutir à des résultats fractionnés dont la synthèse accompagnée de l'expérimentation permet de proposer des méthodes d'amélioration ?

L'agronome se situe par vocation aux deux extrémités de cette chaîne de recherche. Une conception agronomique des travaux à entreprendre suppose une parfaite connaissance des problèmes agricoles et l'établissement d'une hiérarchie qui implique de la part des hommes une formation correspondante.

L'utilisation des données fournies par des acquisitions récentes des sciences fondamentales sera inéluctablement envisagée de façon différente par des hommes à vocation différente. Chacun se situera dans le domaine qui lui est propre. A l'inverse, les problèmes posés par la pratique seront souvent mieux compris par ceux qui sont pénétrés des conditions dans lesquelles ils se posent. Cette constatation ne porte pas d'exclusive et le terme d'agronome doit être pris ici dans son sens le plus large. La conception agronomique s'acquiert à tous les stades de la vie mais elle peut aussi se perdre.

Au stade de la spécialisation, ce sont les aptitudes et le goût des individus qui décident. La présence dans une équipe de spécialistes provenant d'horizons différents est toujours fructueuse. Cette équipe peut d'ailleurs être plus ou moins permanente ou présenter un caractère temporaire. A l'occasion de l'étude d'un problème particulier, des chercheurs constituent un groupe de travail puis chacun retourne vers ses propres activités généralement enrichi par ce travail concerté. Agronomes, vétérinaires, médecins, scientifiques sont susceptibles de se réunir pour entreprendre d'utiles recherches dans le domaine de la zootechnie. Pensons, par exemple, à des travaux intéressant la production et l'utilisation des graisses animales, ou l'emploi dans l'alimentation animale des substances auxiliaires.

De par sa formation biologique, physico-chimique et mathématique, l'ingénieur agronome se trouve normalement préparé à se spécialiser

dans les différentes branches des recherches zootechniques. Il acquiert aisément une connaissance plus approfondie des sciences fondamentales correspondantes et les techniques de recherche nécessaires à la poursuite de son travail. Il se trouve au contact de spécialistes en d'autres matières, c'est une caractéristique de la zootechnie de pouvoir l'aborder par des voies différentes.

Au stade de l'interprétation des résultats, l'agronome assure une pleine efficacité aux travaux en les replaçant dans leur contexte naturel. Le généticien qui interprète les causes de variation d'un caractère donné ou les résultats d'un contrôle de performance les comprend d'autant mieux qu'il possède une parfaite connaissance des conditions d'élevage. Le nutritionniste qui étudie les répercussions alimentaires de la consommation d'herbe jeune se réfère continuellement aux conditions de production de cette herbe. Autrement dit, l'agronome spécialiste peut être mieux placé pour « valoriser » sa spécialisation.

De l'ensemble des résultats des travaux intéressant une question, il faut, dans une dernière étape, tirer des recommandations. A ce stade l'agronome, toujours pris dans un sens large, exerce sa vocation. La synthèse à laquelle il est conduit suppose une parfaite connaissance des impératifs agricoles. Qu'il s'agisse de proposer une méthode d'alimentation des veaux, de conduite d'un troupeau au pâturage ou d'un plan d'alimentation, de choisir un procédé de conservation et de l'appliquer, un programme de sélection des reproducteurs ou une méthode de reproduction, les orientations suggérées doivent tenir compte du milieu où elles s'exerceront sur les plans de la technique, de l'économie et des hommes. A ces seules conditions, la vulgarisation pourra, en les adaptant, en faire bénéficier l'élevage par le jeu de démonstrations et de contacts directs.

En conclusion

L'agronome a des rôles multiples à jouer au sein de la recherche zootechnique. Au stade de la conception des travaux et à celui des synthèses finales sa vocation s'affirme. Dans le déroulement des travaux toutes les spécialisations zootechniques lui sont ouvertes grâce à sa triple formation biologique, physico-chimique et mathématique. Dans les équipes auxquelles il est amené à s'intégrer il apporte toujours le point de vue agronomique et son originalité le conduit à éviter que l'objectif final de l'équipe ou de la chaîne dont il constitue un maillon soit oublié. L'étude des sciences dans ses rapports avec l'élevage est un domaine où sa formation l'appelle à évoluer normalement. Son efficacité dépend naturellement de ses propres qualités et c'est en dernier ressort celles-ci qui fixeront sa véritable place.

Résumé

L'élévation progressive du niveau de vie impose d'accroître les productions animales destinées à la consommation.

L'Ingénieur agronome se consacre à cet impératif en utilisant toutes les techniques susceptibles d'intensifier ces productions en quantité et en qualité. Il ne peut négliger dans cet effort le facteur rentabilité, ni les conditions de milieu.

Les buts à atteindre relèvent à la fois de la recherche fondamentale et de la recherche appliquée, qui se situent dans des plans bien divers tels que la génétique, la physiologie, la nutrition, la pathologie et l'économie.

L'ampleur des connaissances nécessaires oblige à la spécialisation et au travail en équipes avec un objectif final bien déterminé.

The agricultural Engineer and zootechnical Research

Summary

The gradual rise of the standard of living involves the necessity of increasing animal production for consumption purposes.

The agricultural engineer complies with this imperative and uses all techniques capable of intensifying production, both in quantity and in quality. Meanwhile, profits and environmental conditions cannot be neglected.

The goals to be reached belong to both fundamental and applied research in a variety of fields such as genetics, physiology, nutrition, pathology and economics.

The scope of the knowledge required, imposes specialization and team work with a well defined object in view.

Der Landwirt und die Tierzuchtforschung

Zusammenfassung

Das forschreitende Ansteigen des Lebensstandards erfordert eine erhöhte Produktion von Schlachtvieh.

Der Landwirt widmet sich dieser Aufgabe mit allen Mitteln, die diese Produktion quantitativ und qualitativ erhöhen können. Bei diesem Versuch darf er die Rentabilität und die Umweltbedingungen nicht ausser Acht lassen.

Die gesteckten Ziele werfen gleichzeitig Fragen der Grundlagen- und der angewandten Forschung auf, die auf verschiedenen Ebenen, wie der Genetik, der Physiologie, der Fütterung, der Pathologie und der Wirtschaftlichkeit liegen.

Der Umfang der erforderlichen Kenntnisse zwingt zur Spezialisierung und zur Teamarbeit mit einem ganz bestimmten Endziel.

COLLOQUE SUR LES PROBLÈMES RELATIFS AUX APPLICATIONS DES RADIOISOTOPES AUX RECHERCHES AGRONOMIQUES

ORGANISÉ EN COLLABORATION AVEC LE COMITÉ D'APPLICATIONS DES MÉTHODES ISOTOPIQUES AUX RECHERCHES AGRONOMIQUES (I.R.S.I.A.)

Gembloux, 1 et 2 août 1960

PRÉSIDENT DU COMITÉ ORGANISATEUR :

Professeur C. Corin

Institut agronomique, Gembloux

Métabolisme de l'acide butyrique 3 C^{14} dans le pis isolé de vache (*)

par G. Peeters, R. Verbeke et M. Lauryssens
Laboratoire de Physiologie, École de Médecine Vétérinaire de l'Université de Gand (Belgique)

Chez les ruminants sous l'action des bactéries du rumen les aliments sont dégradés et donnent naissance à des quantités importantes d'acides gras volatils (acide acétique, acide propionique, acide butyrique, etc.) qui pénètrent ensuite dans le circuit sanguin où elles sont à la disposition des différentes organes. Le pis de la vache part de ces acides pour former une grande partie des constituants du lait.

Nous avons entre autre étudié le métabolisme de l'acide butyrique par rapport à la synthèse du lait à l'aide de la technique de perfusion du pis isolé de la vache. Lors de cette expérience nous avons ajouté au sang de perfusion 1 mC Na-butyrate-1-C^{14} (Lauryssens, Verbeke et Peeters, 1957). Ce substrat fut métabolisé par la glande mammaire et la quantité de C^{14} retrouvée sous forme de $C^{14}O_2$ augmentait graduellement au cours de l'expérience pour atteindre un maximum vers la fin de la perfusion (durée de l'expérience : 2 heures). La production du $C^{14}O_2$ était beaucoup plus faible qu'en présence de l'acide acétique-1-C^{14}. Nous avons noté une incorporation importante de C^{14} dans les acides gras volatils provenant des glycérides du lait, synthétisés au cours de l'expérience. Cette incorporation était toutefois moins importante qu'en présence de l'acide acétique-1-C^{14}. L'activité spécifique des acides gras du lait augmentait progressivement à partir de l'acide butyrique pour atteindre un maximum dans les acides caprylique, caprique et laurique et diminuer ensuite graduellement à mesure que la chaîne s'allonge. Pratiquement pas d'activité fut détectée dans les acides stéarique et oléique, ce qui est normal puisque ces acides ne sont pas synthétisés dans la glande mammaire mais comme tels soustraits au circuit sanguin. La caséine du lait était également assez radioactive. Cette radioactivité se situait dans les acides aminés non essentiels notamment dans les acides glutamique et aspartique. Nous pensons pouvoir expliquer nos résultats de la manière suivante. L'acide butyrique-1-C^{14} serait dégradé par la glande mammaire avec formation de deux molécules d'acétyl CoA, qui peuvent être utilisées pour la synthèse

(*) Recherches subsidiées par l'Institut pour l'Encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture (I.R.S.I.A.).

des acides gras du lait et également donner naissance à du CO_2 en parcourant le cycle de Krebs. Au cours de ce dernier processus les acides α-cétoglutarique et oxaloacétique sont sans aucun doute marqués au C^{14}. L'acide glutamique et l'acide aspartique sont formés par transamination à partir de ces deux métabolites intermédiaires.

Nous communiquerons ici les résultats obtenus lors d'une perfusion effectuée récemment en présence d'acide butyrique-3-C^{14} (0,5 mC).

Nous avons recueilli le CO_2, éliminé au cours de l'expérience, isolé les acides gras et les acides aminés, et déterminé l'activité spécifique de ces différentes fractions. Si nous obtenons les mêmes résultats qu'en présence d'acide butyrique-1-C^{14} nous pouvons en déduire qu'en effet l'acide butyrique est dégradé et donne naissance à deux molécules d'acétylCoA qui aboutissent dans le même pool et sont utilisées indistinctement pour les différents processus métaboliques.

Lors de cette expérience nous avons aussi isolé du tissu mammaire plusieurs acides du cycle de Krebs ainsi que de la glycolyse et en avons déterminé l'activité spécifique : acide citrique, α-cétoglutarique, succinique, fumarique, malique, lactique et pyruvique. Bien que la présence du cycle de Krebs ait été démontré dans la glande mammaire, plusieurs de ces produits intermédiaires ont été isolé ici pour la première fois à partir du tissu mammaire.

Techniques

Ces expériences furent effectuées sur une moitié de glande mammaire de vache. La vache avait une production d'environ 15 l. de lait par jour. Quant à la description des différentes techniques utilisées (la perfusion du pis de vache, l'isolation des acides gras et des acides aminés, la collection du $C^{14}O_2$, les mesures de la radioactivité) nous nous référons à une publication précédente (Lauryssens, Verbeke et Peeters, 1957).

L'isolation des acides organiques à partir du tissu mammaire se passait comme suit : une quantité de 500 g. de tissu mammaire fut homogénisée avec 2 volumes d'acide perchlorique 0,35 N. L'extrait, obtenu après filtration, fut traité à l'alcool. Après élimination du perchlorate par addition du KOH nous avons obtenu une solution exempte de protéines et de substances visqueuses qui gêneraient plus tard les séparations chromatographiques. Cette solution, contenant tous les acides organiques, fut passé par une colonne de Dowex 1 (Busch *et al.*, 1952) et les acides furent élués à l'aide d'un gradient à l'acide formique. Les acides émergaient de la colonne dans l'ordre suivante : d'abord l'acide lactique, puis les acides succinique et malique, suivis

de l'acide citrique et finalement de l'acide fumarique. L'acide lactique fut purifié par passage sur une colonne célite éluée à l'éther (Phares *et al.*, 1952). Les acides succinique et malique furent séparés à l'aide d'une colonne de gel de silice (Bulen *et al.*, 1952). L'acide citrique fut purifié par passage sur une colonne de gel de silice. L'acide fumarique fut isolé après passage par une colonne éther-célite.

Les cétoacides, l'acide α-cétoglutarique et l'acide pyruvique furent isolés sous forme de 2,4 dinitrophénylhydrazones par chromatographie sur papier. Nous avons obtenu également des bandes distinctes de l'hydrazone de l'acide glyoxalique. Les bandes ainsi obtenues furent éluées et purifiées par chromatographie sur papier utilisant des solvants différents (Abdel-Tawab *et al.*, 1959).

Résultats

En ce qui concerne l'élimination du $C^{14}O_2$, l'incorporation du C^{14} dans le lactose, dans les acides gras du lait et dans les acides aminés de la caséine, nous avons obtenu des résultats analogues à ceux obtenus lors d'une perfusion effectuée en présence de l'acide butyrique-1-C^{14}. Ces résultats démontrent que l'acide butyrique fut dégradé par la glande en deux fragments à deux atomes de carbone. Ces fragments se comportent tous les deux d'une manière identique et sont métabolisés dans un pool commun.

Les résultats concernant les acides organiques obtenus lors de la perfusion effectuée en présence de l'acide butyrique-3-C^{14} sont résumés dans le tableau I. Les acides organiques du cycle de Krebs sont très actifs. Les activités spécifiques sont du même ordre de grandeur pour tous les acides du cycle. Ces activités sont à peu près 3 fois plus importantes que celles observées dans les acides gras les plus actifs,

Tableau I

Activités spécifiques des acides organiques isolés du tissu mammaire après perfusion de la glande mammaire en présence de l'acide butyrique-3-C^{14}

Acides organiques	*Activité spécifique* $m\mu C/mg\ C$) —
Acide citrique	21,2 ± 0,2
Acide succinique	20,4 ± 0,2
Acide fumarique	17,5 ± 0,2
Acide malique	18,7 ± 0,2
Acide α -cétoglutarique	20,7 ± 0,3
Acide lactique	3,15 ± 0,03
Acide pyruvique	0,5

isolés à partir du tissu mammaire après la perfusion. Les activités spécifiques de l'acide lactique et de l'acide pyruvique sont à peu près identiques mais ces activités sont beaucoup plus petites que celles détectées dans les acides précédents. Ceci est d'ailleurs bien compréhensible si l'on considère que les acides lactique et pyruvique se situent dans la chaîne glycolytique et qu'ils reçoivent leurs activités seulement à la suite du passage du C^{14} du cycle de Krebs via l'acide oxaloacétique. Un composant C_2 (dans notre cas l'acétyl CoA marqué au C^{14}) entre dans le cycle et réagit avec l'acide oxaloacétique pour former l'acide citrique. L'acide citrique donne lieu à la formation successive de l'acide → α-cétoglutarique → succinique → fumarique → malique isocitrique → oxaloacétique. Deux molécules de CO_2 sont mises en liberté au cours de ce processus et ainsi le composant à C_2 est métabolisé complètement.

BIBLIOGRAPHIE

Abdel-Tawab, G. A., Brode, E. and Kellner, G. J. *Chromatography*, 1959, **2**, 99.
Bassett, E. W. and Harper, W. J. *J. Dairy Sci.*, 1958, **41**, 1206.
Bulen, W. A., Varner, J. E. and Burrell, R. C. *Anal. Chem.*, 1952, **24** 187.
Bush, H., Hurlbert, R. B. and Potter, V. R. *J. Biol. Chem.*, 1952, 196, 177.
Kornberg, H. L. and Krebs, H. A. *Nature*, Lond., 1957, **179**, 988.
Lauryssens, M., Verbeke, R. en Peeters, G. *Verhand. Koninkl. Vl. Akad. Geneesk. België*, 1957, **19**, 321.
Phares, E. F., Mosbach, E. H., Denison, F. W. and Carson, S. F. *Anal. Chem.*, 1952, **24**, 660.

Résumé

Dans le sang des ruminants, on trouve, entre autre, de l'acide butyrique qui est formé dans le rumen. Le métabolisme de l'acide butyrique -3-^{14}C fut étudié sur le pis isolé et perfusé.

Au point de vue de la production de -$^{14}CO_2$, de l'incorporation de ^{14}C dans les acides gras du lait, les acides aminés de la caséine et le lactose, les résultats furent analogues à ceux obtenus par l'addition de butyrate -1-^{14}C (1) au sang de perfusion. De ceci, nous en avons conclu que le pis dissocie l'acide butyrique en deux composés C_2 qui sont ensuite métabolisés suivant des voies communes. Ces fragments C_2 fonctionneraient de la même manière comme précurseurs des acides gras inférieurs volatils.

Une incorporation importante de ^{14}C fut constatée dans les acides or-

(1) Lauryssens, M., Verbeke, R. et Peeters, G., *Int. Conf. on radioisotopes*, paper n° 117, Paris (1957).

ganiques extraits des tissus du pis. L'activité spécifique mesurée dans les acides du cycle de Krebs (acide citrique, acide α-céto-glutarique, acide succinique, acide malique) fut du même ordre de grandeur ; dans l'acide lactique et dans l'acide pyruvique, on détermina, par contre, une incorporation de ^{14}C de 6 à 7 fois plus faible.

Les résultats obtenus montrent que les fragments formés de C_2, provenant de l'acide butyrique, sont métabolisés via le cycle de Krebs.

Metabolism of -3-C^{14} butyric acid in isolated cow udder

SUMMARY

In the blood of ruminants, we find, among others, butyric acid which is elaborated in the rumen. The metabolism of butyric acid -3-^{14}C was investigated on the isolated and perfused udder.

From the point of view of the production of $^{14}CO_2$, of ^{14}C in the fatty acids of milk, amino acids of casein and lactose, the results were similar to those obtained after addition of 1-^{14}C butyrate (1) to the perfusion blood. From this, we have come to the conclusion that the udder dissociates butyric acid in two compounds C_2 which are then metabolised in a common way. These C_2 fragments would act in the same way as precursors for synthesis of the lower volatile fatty acids.

A large incorporation of ^{14}C was determined in the organic acids extracted from the tissues of the udder. The specific activity measured in the different acids of the Krebs' cycle (citric acid, α-ceto glutaric acid, succinic acid, malic acid) was of the same order : on the contrary in lactic acid and pyruvic acid an incorporation of ^{14}C, 6 to 7 times weaker was observed.

The results obtained show that the C_2 fragments formed from the butyric acid, are metabolized via the Krebs' cycle.

Die Verwandlung der Buttersäure -3- ^{14}C dem isolierten Euter der Kuh

ZUSAMMENFASSUNG.

In dem Blut der Wiederkäuer findet man unter anderem Buttersäure, die in dem Pansen gebildet wird. Der Stoffwechsel der Buttersäure -3-^{14}C wurde in einem isolierten und durchströmten Euter beobachtet.

Was die Erzeugung von -$^{14}CO_2$, die Einkorporierung von ^{14}C in die Fettsäuren der Milch, die Aminosauren des Kaseins und der Laktose anbetrifft, so waren die gefundenen Ergebnisse mit denen identisch, die man erhält, wenn man Buttersäure -1-^{14}C (1) dem Perfusionsblut zusetzt. Daher schliesszen wir, dass das Euter die Buttersäure in zwei Verbindungen C_2 aufteilt, die in der Folge in bekannter Weise umgebaut werden. Diese C_2-Abspaltungen er-

(1) Cf. S. 666.

halten sich als Prekursoren fur der Synthese der niedere und flüchtige Fettsäuren.

Eine erhebliche Einverleibung von ^{14}C wurde in den organischen Säuren, die aus dem Eutergewebe extrahiert wurden, festgestellt. Die spezifische Aktivität, die in den Säuren des Cyclus von Krebs gemessen wurde (Zitronensäure, α-Ketoglutarsäure, Bernsteinsäure, Apfelsäure), hatte den gleichen Grössenwert ; in der Milchsäure und in der Brenztraubensäure stellte man jedoch eine Einverleibung von ^{14}C, die sechs bis sieben mal geringer war, fest.

Die gefundenen Ergebnisse zeigen, dass die gebildeten C_2-Abspaltungen, die von der Buttersäure herstammen, über den Krebscyclus abgebaut worden sind.

La dégradation des Protéines alimentaires dans le rumen (*)

par H. Henderickx

Chaire de Zootechnie, Rijkslandbouwhogeschool, Gand (Belgique)

L'activité protéolytique du contenu du rumen a été démontrée par Sym (1938). Pearson et Smith (1943), travaillant avec le rumen artificiel et faisant leurs expériences avec différentes protéines, ont pu confirmer cette constatation. Cependant ils ont tiré l'attention sur le fait que les protéines étaient attaquées d'une façon inégale. Dans ce même domaine des résultats semblables ont été obtenus par Mc Donald (1948, a, b ; 1952) et par Annison *et coll.* (1954). Si des résultats ont été acquis pour certaines protéines, surtout pour la caséine et la zéine, peu de travail a été fait avec les autres. En plus, comme le font remarquer Phillipson et Cuthbertson (1956), il est impossible de prendre en considération le métabolisme des fractions azotées sans tenir compte des fermentations glucidiques, qui se déroulent en même temps. C'est ainsi que le pourcentage de dégradation dépend et du type de la protéine et des hydrates de carbone présents (Annison et Lewis (1959). La plus grande difficulté à laquelle se heurte l'étude de la dégradation des protéines alimentaires peut être expliquée en considérant le métabolisme des fractions azotées dans la panse. Celui-ci peut être résumé :

N protéique alimentaire, $\xrightarrow{\text{dégradation}}$ N non protéique, $\xrightarrow{\text{synthèse}}$ N protéique microbien.

Comme il n'existe pas de méthode chimique simple qui permet de faire la distinction entre les protéines alimentaires et les protéines microbiennes, il n'y a pas de possibilité d'appliquer la méthode classique consistant à faire le dosage des fractions azotées avant et après la période d'essai, et calculer par différence des taux protéiques, le pourcentage de digestion. En effet, si après dosage chimique le taux protéique avant et après la période d'expérience est le même, il se peut qu'aucun changement n'ait eu lieu entre les protéines, mais il se peut aussi bien qu'une quantité de protéines alimentaires soit dégradée et

(*) Recherches subsidiées par l'Institut pour l'Encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture (I.R.S.I.A).

qu'une quantité équivalente de protéines microbiennes soit synthétisée. Il s'ensuit que le changement du taux protéique après un certain temps ne peut donner que la résultante des deux réactions précitées. Cette difficulté a été soulignée par MAYNARD (1957) réclamant une méthode quantitative simple pour distinguer les fractions azotées microbiennes et alimentaires. Or certaines méthodes ont été préconisées. En principe le dosage du changement du taux protéique doit toujours être effectué et donne la résultante des deux réactions. Puis on essaie par une technique spécifique de déterminer la quantité de protéines dégradée ou synthétisée, et on calcule par différence la quantité appartenant à l'autre réaction. Ainsi Mc DONALD (1954) a suivi la conversion de la zéine en profitant de sa solubilité dans l'alcool aqueux. Le métabolisme de la caséine a été déterminé par Mc DONALD et HALL (1957) en dialysant les protéines en vue d'en évacuer les minéraux ; après hydrolyse à la soude caustique ils ont déterminé lephosphore lié aux protéines. Ce phosphore lié est caractéristique pour la caséine et permet de déterminer la quantité de caséine encore inattaquée. Notons que ces deux méthodes ne sont appliquable qu'à deux protéines spécifiques. Une autre technique, décrite par WELLER, GRAY et PILGRIM (1948) vise à suivre la réaction de synthèse et consiste à mesurer dans les protéines l'acide di-amino-pimelique, amino-acide spécifique pour les protéines bactériennes. Nous proposons une nouvelle méthode, notamment celle de suivre l'action de synthèse par un isotope, le S^{35}. Le choix de cette méthode se justifie du fait que le N^{15} pose des problèmes techniques, ne permettant pas son emploi en série. Le C^{14} d'autre part entre dans le métabolisme des glucides.

BLOCK, STEKOL et LOOSLI (1951) ont démontré qu'en ajoutant le $S^{35}O_4^{--}$ au jus de panse les protéines deviennent radio-actives par le marquage en S^{35} de la cystine et de la méthionine. Comme WELLER (1957) a prouvé que la composition en acides aminés des protéines microbiennes reste la même, quelle que soit l'alimentation,on peut en conclure que la quantité de protéines synthétisées est d'autant plus grande que l'activité spécifique est plus élevée. Si on connaît le rapport N prot. bact./S^{35} prot. bact., on peut calculer la quantité d'azote protéique microbien synthétisée en partant de l'activité spécifique. Pour connaître le taux azoté qui participe à la dégradation des protéines alimentaires et à la synthèse des protéines microbiennes, nous déterminons la résultante par analyse chimique et nous dosons le taux d'azote converti en azote protéique bactérien par la mesure de l'activité spécifique. Le taux d'azote protéique qui est dégradé est calculé par différence. Cette méthode est appliquée ici pour étudier l'influence des hydrates de carbone sur la digestion des protéines alimentaires.

Partie expérimentale

Rumen artificiel : La technique *in vitro* a été décrite ailleurs (Henderickx, 1959). Le jus de panse utilisé provient d'animaux d'abattoir mis à jeun depuis 48 heures. L'incubation dure exactement 6 heures.

Méthodes d'analyse : L'azote total et l'azote non protéique sont déterminés par la méthode « micro-Kjeldahl ». La destruction est exécutée avec un catalysateur de sélénium et l'acide sulfurique concentré. La distillation se fait dans un appareil micro-Parnas-Wagner. L'azote non protéique est dosé dans un filtrat obtenu par défécation des protéines suivant Somogyi, Schaffer et Hartman (1930) avec 10 % $ZnSO_4$ et 0,5 N NaOH.

L'activité spécifique est directement déterminée sur les protéines isolées. L'isolation et la préparation de ces protéines se font suivant Block, Stekol et Loosli (1951) avec l'acide trichloro-acétique à 20 %. Les protéines sont mesurées dans un compteur Geiger-Muller du type « gas-flow »

Mélange d'incubation : Par bouteille d'incubation :

100 cc jus de panse.
10 cc mélange minéral selon Burroughts *et all.* (1950).
25 mg d'azote protéique.
1 g hydrate de carbone.
25 μc $S^{35}O_4^{--}$ sans porteur.
volume final 200 cc.

Dans chaque expérience il y une bouteille de contrôle pour déterminer le rapport N prot. bact./S^{35} prot. bact. La composition de ce contrôle est telle qu'elle ne permet qu'une synthèse protéique. Ce contrôle à la composition suivante :

100 cc jus de panse.
10 cc mélange minéral selon Burroughs *et all.* (1950).
25 μc $S^{35}O_4^{--}$ sans porteur.
25 mg d'azote minéral provenant du NH_4HCO_3.
500 mg glucose.
500 mg amidon soluble.
volume final 200 cc

Résultats

Dans le tableau n° I nous donnons les résultats pour l'essai avec la gélatine. La première colonne montre le changement du taux d'azote protéique calculé par la différence du taux azoté protéique avant l'incubation et après six heures d'expériences. Le signe — ou + signifie une diminution ou une majoration de l'azote protéique global. La seconde colonne donne l'activité spécifique exprimée en CPM par mg de protéine. Cette activité a été corrigée pour les erreurs de mesure (dead time, etc.) et les erreurs expérimentales (adsorption du $S^{35}0_4^{--}$, effets non biologiques). La troisième colonne donne la quantité d'azote convertie en azote bactérien calculée par multiplication de l'activité spécifique et le facteur de conversion obtenu dans l'incubation de contrôle. La colonne 4 donne la quantité dégradée de l'azote protéique alimentaire, obtenue par différence des colonnes 1 et 3.

Tableau I

Essai avec la Gélatine

Hydrate de carbone	1 Changement de l'azote prot. en mg N/100 cc.	2 Activité spécifique en CPM/mg protéine	3 Dégradation des prot. alim en mg N/100 cc.	4 Synthèse des prot. microb. en mg N/100 cc.
Blanc	—31,9	393	—33,2	+1,3
Arabinose	— 9,8	2912	—19,5	+9,7
Xylose	—14,8	2540	—23,2	+8,4
Fructose	—13,4	1394	—18,0	+4,6
Glucose	—13,2	1820	—18,2	+6,0
Mannose	—12,0	1732	—17,8	+5,8
Cellobiose	—11,8	1551	—16,9	+5,1
Maltose	—10,9	1973	—17,5	+6,6
Sucrose	—13,4	1612	—18,8	+5,4
Cellulose	—29,4	393	—30,7	+1,3
Dextrine	—18,8	1733	—24,6	+5,8
Hémi-Cellul. A	—28,8	546	—30,6	+1,8
Hémi-Cellul. B	—22,7	708	—25,1	+2,4
Inuline	—11,2	1820	—17,2	+6,0
Pectine	— 9,8	2590	—18,4	+8,6
Xylane	—13,7	2017	—20,4	+6,7
Amidon	—14,0	1224	—18,1	+4,1

$4 = 2 \times 0{,}00332$
$3 = 1 - 4$

Les tableaux II et III sont analogues et donnent les résultats pour le gluten de froment et la kératine.

TABLEAU II

Essai avec le Gluten de Froment

Hydrate de carbone	1 Changement de l'azote prot. en mg N/100 cc.	2 Activité spécifique en CPM/mg protéine	3 Dégradation des prot. alim. en mg N/100 cc.	4 Synthèse des prot. microb. en mg N/100 cc.
Blanc	—19,9	570	—21,0	+1,1
Arabinose	+ 4,5	5513	— 6,4	+10,9
Xylose	+ 2,2	4495	— 6,7	+8,9
Fructose	— 3,4	3225	— 9,8	+6,4
Glucose	+ 5,3	4278	— 3,1	+8,4
Mannose	+ 4,2	4398	— 4,5	+8,7
Cellobiose	+ 5,0	3476	— 1,8	+6,8
Maltose	+ 5,6	4476	— 3,2	+8,8
Sucrose	+ 4,5	3417	— 2,2	+6,7
Cellulose	—18,5	568	—19,6	+1,1
Dextrine	+ 2,2	3263	— 4,2	+6,4
Hémi-Cellul. A	—13,7	1329	—16,3	+2,6
Hémi-Cellul. B	— 1,7	2141	— 5,9	+4,2
Inuline	+ 1,1	2625	— 4,1	+5,2
Pectine	+ 2,2	3403	— 4,5	+6,7
Xylane	+ 2,8	2288	— 1,7	+4,5
Amidon	— 1,4	1976	— 5,3	+3,9

3 = 2 × 0,00197

3 = 1 — 4

TABLEAU III

Essai avec la Kératine

Hydrate de carbone	1 Changement de l'azote prot. en mg N/100 cc.	2 Activité spécifique en CPM/mg protéine	3 Dégradation des prot. alim. en mg N/100 cc.	4 Synthèse des prot. microb. en mg N/100 cc.
Blanc	—18,2	693	—19,5	+1,3
Arabinose	+ 7,3	4147	— 0,6	+7,9
Xylose	+ 5,9	4597	— 2,8	+8,7
Fructose	+ 5,3	3894	— 2,1	+7,4
Glucose	+ 7,0	5219	— 2,9	+9,9
Mannose	+ 7,6	5218	— 2,3	+9,9
Cellobiose	+ 2,8	5433	— 7,5	+10,3
Maltose	+ 7,0	4278	— 1,1	+8,1
Sucrose	+ 7,0	5460	— 3,4	+10,4
Cellulose	—17,6	481	—18,5	+0,9
Dextrine	+ 7,6	5839	— 3,5	+11,1
Hémi-Cellul. A	—12,6	1200	—14,9	+2,3
Hémi-Cellul. B	0	2380	— 4,5	+4,5
Inuline	+ 6,4	4750	— 2,6	+9,0
Pectine	+ 4,5	5971	— 6,8	+11,3
Xylane	+ 2,5	2372	— 2,0	+4,5
Amidon	— 2,8	1652	— 5,9	+3,1

4 = 2 × 0,00190

3 = 1 — 4

La figure 1 donne le pourcentage de dégradation pour les protéines en présence des différents glucides. Ce pourcentage peut être calculé à partir de la colonne 4 des Tableaux I, II et III si on tient compte qu'une quantité de protéine équivalant à 25 mg. d'azote protéique a été ajoutée au mélange d'incubation. La figure 2 donne le pourcentage d'azote retrouvé dans les protéines microbiennes ; le même calcul étant adopté que pour la figure 1.

Discussion

Les résultats obtenus avec les incubations sans source d'énergie montrent clairement que la dégradation dépend en premier lieu de la protéine même. En effet nous trouvons pour la gélatine une diminution du taux d'azote protéique de 33,2 mg N/100 cc ; pour le gluten de 21,0 mg N/100 cc et pour la kératine de 19,5 mg N/100 cc ; comme une quantité protéique égale à 25,0 mg N protéique a été incubée on peut en déduire le pourcentage de dégradation.

Remarquons pour la gélatine un pourcentage au-dessus de 100 %, ce qui veut dire qu'en plus de la protéine ajoutée une partie des protéines microbiennes ont été dégradées en même temps. Peut-être qu'avec les deux autres protéines se produit le même phénomène c.à.d. qu'une partie des protéines dégradées provient de source microbienne, et non alimentaire.

En présence de glucides la dégradation est fortement changée. Le glucose, substance facilement attaquable étant le point de départ des voies métaboliques, réduit la dégradation protéique pour la gélatine de 33,2 mg N/100 cc à 18,2 mg N/100 cc, pour le gluten de 21,0 mg N/100 cc. à 3,1 mg N/100 cc et pour la kératine de 19,5 mg N/100 cc à 2,9 mg N/100 cc. Une même réduction est obtenue avec les autres sucres, connus comme facilement fermentescibles. Néanmoins pour la cellulose les chiffres obtenus sont comparables avec ceux acquis pour le blanc ; il en résulte un effet non-inhibiteur sur la protéolyse. Pour la synthèse des protéines microbiennes la présence de sucres facilement attaquables est d'une nécessité absolue. Pour un processus endergonique, comme la synthèse protéique, il faut un apport abondant d'énergie. Nous remarquons que dans nos trois essais une resynthèse importante se produit en présence des glucides facilement fermentables. Pour la cellulose le taux d'azote resynthétisé est le même que pour l'incubation sans source énergétique. La question se pose pourquoi la cellulose dont la fermentation dans le rumen est un fait connu, ne peut pas donner un appui à la synthèse protéique. Il faut tenir compte ici que la dégradation cellulosique est une réaction très lente dans les

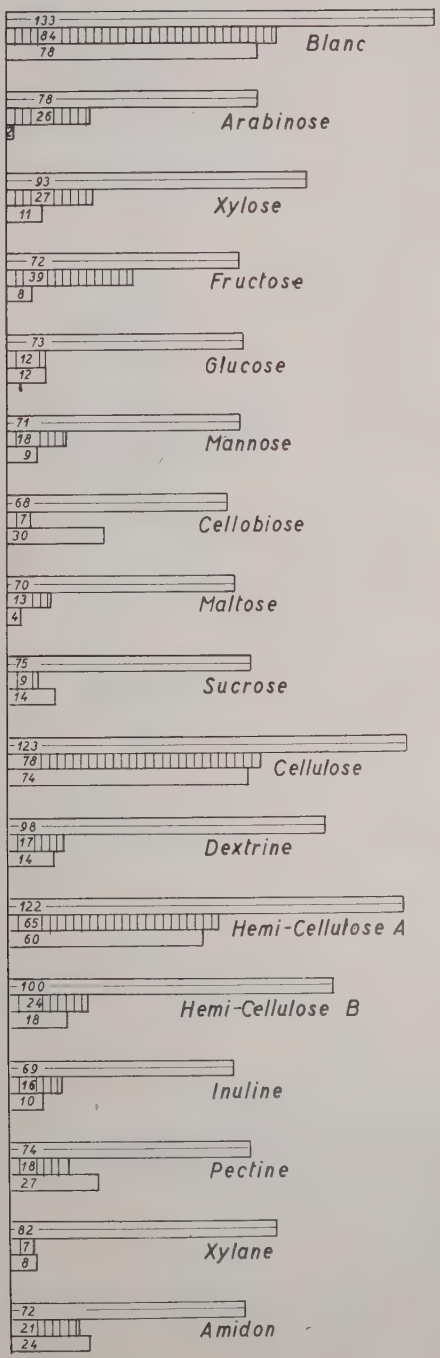


Fig.1 POURCENTAGE DE DEGRADATION DES PROTEINES ALIMENTAIRES EN PRESENCE DES GLUCIDES

1° GELATINE □
2° GLUTEN DE FROMENT ▤
3° KERATINE □

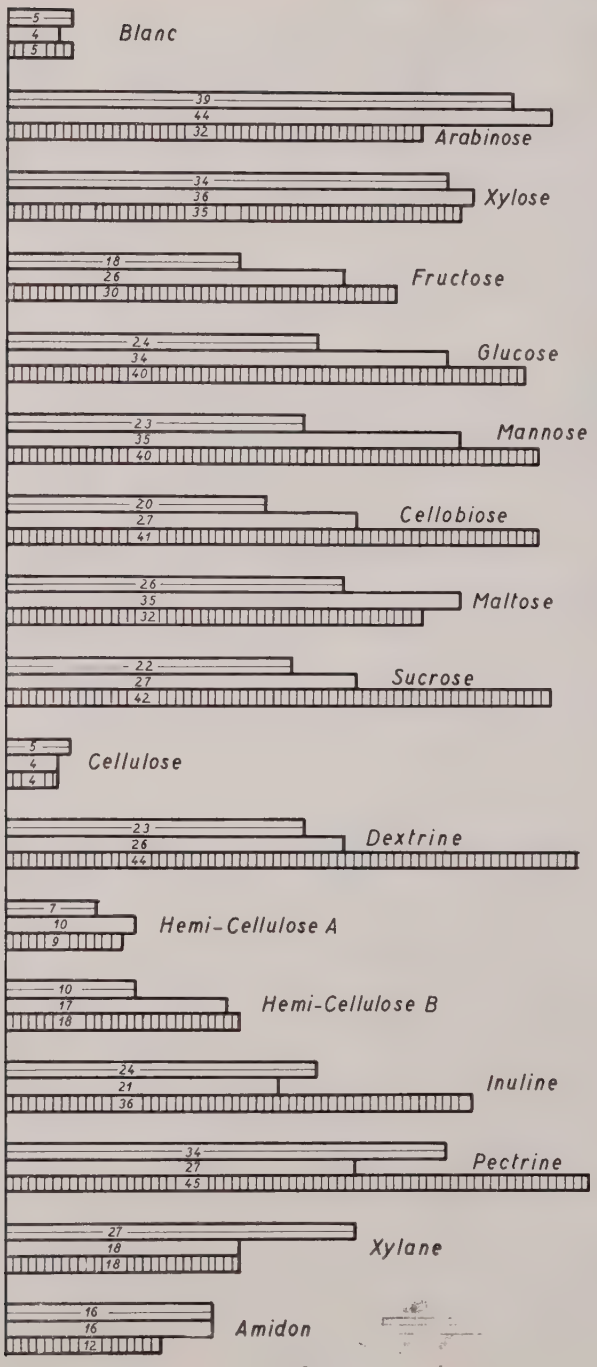


fig.2 POURCENTAGE DE CONVERSION DES PROTEINES ALIMENTAIRES EN PROTEINES MICROBIENNES EN PRESENCE DES GLUCIDES

systèmes *in vitro* (Fauconneau *et coll.*, 1953 et Belasco, 1954). C'est pourquoi le support énergétique, nécessaire pour la synthèse microbienne, n'est pas suffisant ou même inexistant dans nos conditions expérimentales.

L'hémi-cellulose A réduit de quelques mg la dégradation de l'azote protéique alimentaire ; par contre la synthèse microbienne est favorisée si on fait la comparaison avec les incubations « blanc et cellulose ». L'effet de l'hémi-cellulose B ressemble plus à l'action des glucides simples : réduction de la dégradation, support favorable à la synthèse. Notons que l'hémi-cellulose B est plus soluble et probablement plus facilement fermentescible que l'hémi-cellulose A et la cellulose.

On peut dire en généralisant que les glucides facilement attaqués provoquent une inhibition de la dégradation des protéines alimentaires et qu'elles sont des sources énergétiques excellentes pour la synthèse microbienne. Une substance glucidique qui n'est pas attaquée ou attaquée à un rythme trop lent n'influence que très peu la protéolyse mais n'intervient pas favorablement dans l'action synthétique. Entre ces deux extrêmes on trouve les poly-oses dont la vitesse de fermentation est intermédiaire et dont les interventions dans le métabolisme ne sont pas si prononcées que celles des sucres simples.

Signalons aussi l'effet de certains produits naturels comme l'insuline, la pectine et le xylane, qui ressemble de très peu à celui des monoses. Quoique ces substances aient été utilisées dans nos expériences sous forme extrêmement purifiée, leur comportement est sans doute comparable aux produits naturels. Comme certains de ces constituants glucidiques se retrouvent dans les rations des herbivores à des pourcentages non négligeables, on doit tenir compte de leur rôle dans le métabolisme azoté.

Un autre facteur non négligeable c'est le changement de l'azote non protéique. Comme cette fraction azotée consiste en 90 % de NH_3, qui est d'après les recherches de Le Bars et Mollé, Simonnet (1957) toxique à partir d'une dose de 0,7 g N par kg de poids vif pour le mouton, il serait très souhaitable d'obtenir des bilans où le taux de la fraction d'azote non protéique serait diminué ou au moins inchangé. Or ceci est peu réalisable pour les protéines qui sont facilement attaquées comme la gélatine et pour lesquelles même les sucres simples ne réussissent pas à faire diminuer la fraction d'azote non protéique. En effet le bilan de l'azote protéique est partout négatif c.à.d. qu'il y a plus de dégradation que de synthèse. Pour les protéines comme la kératine qui sont dégradées moins vite on obtient un bilan de zéro même avec l'hémi-cellulose B. Il en résulte que pour éviter un taux d'ammoniaque trop élevé la présence des glucides facilement fermentables est d'une nécessité absolue pour les protéines qui sont dégradées à une allure trop

rapide, tandis que pour les autres protéines la présence de ces oses donne un bilan bien plus favorable.

Quoique pour les ruminants la valeur biologique des protéines ne joue pas un rôle prépondérant, il est intéressant de noter le changement important de cette valeur qui peut se produire. En effet Mc Naught, Smith, Henry et Kon (1950) ont montré que la valeur biologique des protéines microbiennes est de 88. Comme la gélatine n'a qu'une valeur biologique de 25, il y a donc dans le rumen un anoblissement des protéines. Or de ce point de vue il serait souhaitable de dégrader au maximum la gélatine et de stimuler la synthèse microbienne. Il en est de même avec les autres protéines qui ont une valeur biologique plus basse que celle des protéines microbiennes. Pour les autres protéines avec une valeur biologique plus grande que celle des protéines microbiennes (si ce point de vue a une signification pour les ruminants) il faudrait inhiber la dégradation afin de ne pas avoir une perte de valeur biologique.

Cette discussion montre que dans l'étude du comportement des protéines dans le rumen il existe plusieurs possibilités, qui ne concordent pas toujours. Afin de trouver la meilleure solution, il reste encore à faire beaucoup de travail dans lequel il sera avantageux, sinon nécessaire comme le prouve nos expériences, de pouvoir utiliser les isotopes.

BIBLIOGRAPHIE

Annison, Chalmers, Marshall et Synge. (1954). *J. Agric. Sci.* **44**, 270.
Annison et Lewis. (1959). « Metabolism in the Rumen ». Methuen et Co, London.
Belasco. (1954). *J. Anim. Sci.*, **13**, 739.
Block, Stekol et Loosli. (1951). *Arch. Biochem. Biophys.*, **33**, 353.
Burroughs, Headly, Bethqe et Gerlaugh. (1950). *J. Anim. Sci.*, **9**, 513.
Fauconneau, Francois, Leroy et Zelter. (1953). *Ann. Zoot.*, **2**, 275.
Henderickx. (1959). *Vl. Diergen. Tijdschr.*, **28**, 80.
Le Bars, Mollé et Simonnet, (1957). *J. Physiol.*, **49**, 259.
Maynard. (1957). *Ann. Nutr. Alim.*, **11**, 180.
Mc. Donald. (1948) a. *Biochem. J.*, **42**, 584.
Id. (1948) b. Dissertat. Cambridge.
If. (1952). *Biochem. J.*, **51**, 86.
Id. (1954). *Biochem. J.*, **56**, 120.
Id. et Hall. (1957). *Biochem. J.*, **67**, 400.
Mc. Naught, Smith, Henry et Kon (1950). *Biochem. J.*, **46**, 32.
Pearson et Smith. (1943). *Biochem. J.*, **37**, 153.
Phllipson et Cuthbertson. (1955). *Cong. Intern. de Zoot.*, Rap. N° **6**, 7.
Somogyi, Schaffer et Hartmann. (1930). *J. Biol. Chem.*, **86**, 655.

Sym. (1938). *Acta Biol. exp.*, Varsovie **12**, 192.
Weller. (1957). *Austr. J. Biol.*, Sci. **10**, 284.
Weller, Gray et Pilgrim. (1958). *Brit. J. Nutr.*, **12**, 421.

Résumé.

Les essais ont été effectués avec la technique du rumen artificiel, chargé avec le jus de panse d'animaux d'abattoir mis à jeûne depuis 48 heures. Comme les méthodes chimiques ordinaires ne permettent pas de faire la distinction entre les protéines alimentaires et les protéines microbiennes, synthétisées pendant l'incubation, il a été fait usage du S^{35} sous forme de $S^{35}O_4$. Le sulfate est incorporé activement dans les protéines synthétisées au cours de l'incubation. L'activité spécifique des protéines permet donc de déterminer le taux de protéines effectivement synthétisées.

Nos résultats montrent que la dégradation des protéines alimentaires est influencée par les protéines mêmes et par la nature des sources d'énergie utilisées. La synthèse des protéines microbiennes est facteur de la présence des sources d'énergie. Le changement de l'azote non protéique, consistant à 85 % d'azote ammoniacale dépend donc de ces deux réactions : la dégradation des protéines alimentaires et la synthèse des protéines microbiennes.

The Breakdown of Food Proteins in the Rumen

Summary

Experiments have been carried out using the artificial rumente chnique, filled with paunch juice of slaughter cattle starved for 48 hours.

As it is impossible to distinguish by the usual chemical methods, food proteins from bacterial proteins synthetised during incubation, S^{35} was used as $S^{35}O_4$. The sulfate is actively incorporated in the synthetic proteins during the incubation process. The specific activity of the proteins thus makes it possible to determine the amount of proteins actually synthetized.

Our results show that the breakdown of food proteins is influenced by the proteins themselves and by the nature of the sources of energy used. The synthesis of bacterial proteins is determined by the presence of sources of energy. The transformation of non protein nitrogen, 85 % of which is ammonia nitrogen, thus depends on the two following reactions : the breakdown of food proteins and the synthesis of bacterial proteins.

Abbau der Nahrungseiweisstoffe im Pansen

Zusammenfassung

Die Versuche wurden mit Hilfe der Technik des künstlichen Pansens durchgeführt, der mit Magensaft von nach 48 Stündigem Fasten geschlachteten

Tieren beladen wurde. Da die üblichen chemischen Methoden eine Unterscheidung zwischen den Nahrungseiweissstoffen und den mikrobiellen Eiweissstoffen, die während der Inkubation synthesiert werden, nicht zulässt, wurde S^{35} in Form von $S^{35}O_4$ angewendet. Das Sulphat wird im Verlauf der Inkubation aktiv in die synthetisierten Proteine eingebaut. Die spezifische Aktivität der Proteine erlaubt es nun, den Anteil der tatsächlich synthetisierten Proteine zu bestimmen.

Die Resultate zeigen, dass der Abbau der Nahrungseiweissstoffe durch die Proteine selber und die Natur der benutzten Energiequellen beeinflusst wird. Die Synthese der mikrobiellen Eiweisse hängt vom Vorhandensein der Energiequellen ab. Der Umsatz des Nichtproteinstickstoffes, der zu 85 % Amoniakstickstoff ist, hängt also von diesen beiden Reaktionen ab : dem Abbau der Nahrungseiweissstoffe und der Synthese der mikrobiellen Eiweissstoffe.

Fermentation du glucose C^{14} par des bactéries lactiques (1)

par Prof. A. De Vleeschauwer,
G. Cnockaert, A. Wilssens et J. De Groote
Rijkslandbouwhogeschool, Gand (Belgique)

Introduction

Des recherches effectuées par Gibbs *et al.* (18) il apparaît que le *Lactobacillus casei*, une bactérie lactique homofermentative, fermente le glucose-C^{14} avec production de l'acide lactique, marquée de telle façon que cette dégradation s'effectue d'après le schéma de la glycolyse d'Embden-Meyerhof. Lors de la fermentation du glucose-1-C^{14} par cet organisme, 97 % du « tracer » se trouvait dans le groupement méthylique de l'acide lactique, alors qu'avec le glucose-3-4-C^{14} environ la même proportion se trouvait dans le groupement carboxylique de cet acide.

Quoique le schéma de la glycolyse joue un rôle important lors de la dégradation des sucres par des nombreux micro-organismes, il est prouvé à suffisance que d'autres processus de dégradation se présentent, qui remplacent en totalité ou en partie le schéma d'Embden-Meyerhof.

Pederson (28) constata que le *Leuconostoc mesenteroides*, une bactérie lactique hétérofermentative, produisait des quantités quasi équimoléculaires de l'acide lactique, de l'anhydride carbonique et de l'éthanol. Gibbs et DeMoss (17) prouvèrent que le schéma d'Embden-Meyerhof ne fut pas suivi vu que le $C_{(1)}$ du glucose fut transformé quantitativement en CO_2.

De la formation en toutes circonstances de quantités équimoléculaires de l'anhydride carbonique, de l'éthanol et de l'acide lactique, DeMoss, Bard et Gunsalus (10) conclurent que l'acide pyruvique ne pouvait être le précurseur, ni de l'acide lactique d'une part, ni de l'anhydride carbonique et de l'éthanol d'autre part. Comme ils ne purent constater la présence d'une aldolase ou d'une isomérase, le schéma de dégradation doit être nettement différent de celui d'Embden-Meyerhof.

Gunsalus et Gibbs (20) laissèrent fermenter des sucres marqués en différents endroits avec formation de CO_2 du groupement aldéhydique, de l'éthanol de $C_{(2)}$ et $C_{(3)}$ et de l'acide lactique de $C_{(4)}$, $C_{(5)}$ et $C_{(6)}$. Ils constatèrent que l'addition de l'acide acétique pouvait stimuler la fermentation et apparut être dans ce cas le précurseur d'éthanol en sa qualité d'accepteur d'hydrogène.

DeMoss, Gunsalus et Bard (12) démontrèrent la présence d'une déhydrogénase, glucose-6-phosphate, dans des extraits de cellules de *Leuconostoc mesenteroides*, par laquelle le glucose-6-phosphate serait transformé en acide 6-phospho-

(1) Recherches subsidiées par l'Institut pour l'Encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture (I.R.S.I.A.), en collaboration avec la Chaire de Technologie Agricole de l'Institut Agronomique de Gand.

(2) Nous remercions vivement Messieurs De Ley, Van Summere, Van den Hende et De Schacht, de même que le « National Institute for Research in Dairying », pour l'aide qu'ils nous ont apporté dans la réalisation de cette recherche.

gluconique, suivi d'une décarboxylation oxydative avec formation de CO_2 et de pentosephosphate.

DeMoss (9) attira l'attention sur le fait que le processus de formation de l'éthanol peut différer sensiblement. D'après le schéma de la glycolyse l'éthanol serait formé du $C_{(1)}$-$C_{(2)}$ et du $C_{(5)}$-$C_{(6)}$ du glucose (24) alors qu'avec le schéma d'Entner-Doudoroff il dériverait du $C_{(2)}$-$C_{(3)}$ et $C_{(5)}$-$C_{(6)}$ avec le groupement méthylique du 3e et 6e atome de carbone (16). Lors de la fermentation avec le *Leuconostoc mesenteroides* les atomes $C_{(2)}$ et $C_{(3)}$ donneraient lieu à l'éthanol, le $C_{(2)}$ au groupement méthylique et le $C_{(3)}$ au groupement CH_2OH- (20).

La fermentation du glucose-1-C^{14} suffirait d'après Gibbs *et al* (19) pour différencier le schéma d'Embden-Meyerhof et le schéma lactique hétérofermentatif vu la différence essentielle dans le métabolisme du groupement aldéhydique.

La fermentation du glucose par le *Leuconostoc mesenteroides* permettrait d'après Bernstein *et al.* (2) avec quelques réactions supplémentaires, la différenciation de tous les atomes de carbone du glucose marqué ; les méthodes de dégradation chimique sans fermentation préalable et qui sont beaucoup plus compliquées pourraient ainsi être remplacées. La fermentation par le *Lactobacillus casei* serait à ce point de vue moins indiquée, vu qu'on obtient toujours des paires d'atomes de carbone entre lesquelles une différenciation ultérieure n'est plus possible, notamment $C_{(1)}$- $C_{(6)}$; $C_{(2)}$-$C_{(5)}$ et $C_{(3)}$-$C_{(4)}$. Il est à remarquer que, vu l'absence d'intermédiaires symétriques comme dans la glycolyse et d'un cycle comme dans le « shunt », les phénomènes d'échange entre les atomes de carbone sont réduits au minimum dans le schéma de la fermentation du glucose par le *Leuconostoc mesenteroides*.

Les recherches mentionnées ci-dessus semblent indiquer une uniformité dans les produits finals de fermentation par le *Leuconostoc mesenteroides*. Toutefois Nelson et Werkman (27) constatèrent différentes possibilités de fermentation des bactéries lactiques hétérofermentatives ; d'une part formation de l'anhydride carbonique, de l'éthanol et de l'acide lactique et d'autre part formation du glycérol, de l'anhydride carbonique, de l'acide lactique et de l'acide acétique. McCleskey *et al.* (25) constatèrent 4 types de *Leuconostoc mesenteroides* (A, B, D et F) isolés de jus de la canne à sucre. Ces types donnèrent des réactions différentes de fermentation et des quantités notables en acides volatils furent trouvées.

Bergey (3) ne mentionne pas parmi les propriétés de *Leuconostoc mesenteroides*, la formation équimoléculaire de l'anhydride carbonique, de l'éthanol et de l'acide lactique et d'après son traité le genre *Leuconostoc mesenteroides* outre les produits précités, formerait également de l'acide acétique lors de la fermentation des sucres.

Pederson et Albury (29) mentionnèrent également la formation d'acides volatils et des grandes variations entre les bactéries lactiques hétérofermentatives. Ils attirèrent également l'attention sur l'influence des milieux de culture sur les propriétés des bactéries.

Johnson et McCleskey (23) mentionnèrent qu'il y avait des souches déterminées qui emploient l'oxygène comme accepteur d'hydrogène avec une formation moindre en éthanol et avec production de l'acide acétique. Ceci est en contradiction avec les recherches de DeMoss et Gibbs (11) d'après lesquelles *Leuconostoc mesenteroides* formerait les mêmes produits finaux en aérobiose et anaérobiose.

Christensen *et al.* (6) ont trouvé une grande variation dans le rapport acide acétique-acide lactique chez les différentes bactéries lactiques en fonction de la concentration en sucre.

Le but de ces recherches était de déterminer les schémas de fermentation du glucose par différentes bactéries lactiques homo- et hétérofermentatives.

Méthodes d'analyses et résultats

Les souches de bactéries examinées furent :

— *Leuconostoc mesenteroides* ATCC (1) n° 12.291 mentionné sous le n° 39 dans les recherches de DeMoss.
— *Leuconostoc mesenteroides* NCDO (2), n° 523.
— *Leuconostoc dextranicum* NCDO n° 517.
— *Lactobacillus casei* NCDO n° 151.
— *Lactobacillus casei* n° 17-R (notre collection).

Ces souches furent cultivées dans le milieu nutritif liquide suivant : 1 % glucose, 1 % extrait de levure, 1 % trypton, 0,5 % K_2HPO_4 et 2 % d'un mélange de sels (0,8 % $MgSO_4$. 7 H_2O ; 0,04 % $FeSO_4$.7 H_2O ; 0,04 % NaCl ; 0,19 $MnCl_2$.4H_2O et 0,5 % d'HCl concentré).

Après obtention d'une quantité suffisante de cellules actives, celles-ci sont centrifugées, lavées et introduites comme suspension en solution saline (3) dans le flacon de fermentation, auquel on ajoute 1 mmole de solution de glucose et un indicateur. Cette méthode fut reprise partiellement de Altermatt et Blackwood (1).

Les flacons furent agités durant la fermentation dans un bain-marie à température constante (température optima) et les solutions furent maintenues à un pH optimum par l'injection régulière d'une solution de NaOH.

On injecte 1 ml HCl 5 N pour arrêter la fermentation et pour transformer les carbonates éventuellement formés en anhydride carbonique ; ce gaz est absorbé dans une solution de soude caustique exempte de carbonates.

Les acides du milieu fermenté sont neutralisés avec NaOH 5 N et par après on ajoute 2 ml $ZnSO_4$ 25 % et une quantité équivalente de NaOH. Les protéines et autres substances précipitent et on obtient après centrifugation une solution claire, traitée comme suit : l'éthanol est distillé et transformé par oxydation en acide acétique avec 1 ml d'une solution molaire de $Na_2Cr_2O_7$ et 20 ml H_2SO_4 19 N. Le résidu après distillation et après acidification avec 0,5 ml HCl 5 N est traité

(1) ATCC : American Type Culture Collection.
(2) NCDO : National Collection of Dairy Organism.
(3) Cette solution saline comportait : 94 parties d'eau exempte d'anhydride carbonique 4 parties de 0,5 moles KH_2PO_4 et 2 parties de la solution saline du milieu nutritif précité.

avec l'éther dans lequel se rassemblent les acides organiques. Cette solution acide est neutralisée, évaporée et séparée dans ses constituants par chromatographie sur colonne d'après la méthode d'Isherwood (22) modifiée par Neish (26), avec le benzène et le n. butanol comme liquide d'élution. Cette méthode de séparation fut vérifiée par nous avec les acides d'activité spécifique connue et elle donna entière satisfaction.

Les fractions de l'acétate et du lactate de sodium, obtenues après neutralisation, sont séchées et dégradées chimiquement. L'acide lactique est dégradé en anhydride carbonique ($C_{(1)}$) et éthanol ($C_{(2)}$ et $C_{(3)}$) ; celui-ci est à son tour transformé par oxydation, comme mentionné plus haut, en acide acétique. L'acide acétique est dégradé d'après la réaction de Schmidt, d'après une modification de Phares (31). Des essais de décarboxylation de l'acide acétique, marqué dans le groupement carboxylique, prouvèrent que le CO_2 formé provenait uniquement de ce groupement carboxylique et en même temps la spécificité de cette méthode de dégradation.

La méthode de Van Slycken-Folch (33) fut suivie pour la combustion totale.

Le CO_2 produit durant la fermentation ou provenant de réactions chimiques fut fixé comme carbonate dans une solution de soude caustique exempte de CO_2 et par après transformé en $BaCO_3$. L'activité du $BaCO_3$ fut déterminée avec le Tracerlab Gasflow Counter.

1re Série d'expériences : Fermentation du glucose marqué par *Leuconostoc mesenteroides* ATCC n° 12.291.

Les résultats de ces fermentations, pour ce qui concerne la distribution de l'activité spécifique dans les produits finaux, sont mentionnés dans le tableau I.

Des résultats mentionnés dans le tableau I il apparaît que les valeurs de l'activité spécifique du CO_2, de l'éthanol et de l'acide lactique sont nettement fonction de l'emplacement du carbone marqué. Ainsi le CO_2 est marqué (fermentations 1 à 5) lors de la fermentation avec le glucose-1-C^{14}, l'éthanol avec le glucose-2-C^{14} (fermentations 6 à 8) et l'acide lactique avec le glucose-6-C^{14} (fermentations 9 et 10).

Des résultats il apparaît également que le CO_2 radioactif avait une activité spécifique de 6 fois supérieure à celle du glucose-1-C^{14}, alors que le CO_2 provenant de glucose marqué autrepart ne fut pas actif. Ces résultats prouvent que le groupement aldéhydique du glucose est transformé quantitativement en CO_2 et que le CO_2 formé provient uniquement du groupement aldéhydique.

Il est à remarquer que seul l'éthanol est marqué et spécifiquement dans le groupement CH_3- lorsqu'on fermente du glucose-2-C^{14}. L'ac-

Tableau I

Activité spécifique (*) des produits finals de fermentation du glucose -1-C^{14}, 2-C^{14} et 6-C^{14} par *Leuconostoc mesenteroides* ATCC n° 12.291.
Croissance anaérobique à 30°C et pH 5-6.

Fermentation n°	Emplacement du glucose marqué	Activité spécifique						
		Glucose	CO_2	CH_3CH_2OH	CH_3—	CH_2OH—	CH_3 | COOH	CH_3 | CHOH | COOH
1	G-1-C^{14}	286	1746	16	—	—	100	18
2	G-1-C^{14}	286	1698	16	—	—	105	17
3	G-1-C^{14}	286	1945	9	—	—	151	28
4	G-1-C^{14}	286	1871	12	—	—	131	50
5	G-1-C^{14}	286	1722	9	—	—	77	18
6	G-2-C^{14}	239	2	573	1124	20	168	19
7	G-2-C^{14}	239	3	680	—	—	273	34
8	G-2-C^{14}	239	2	658	1210	21	182	39
9	G-6-C^{14}	246	1	5	—	—	386	417
10	G-6-C^{14}	246	1	5	—	—	275	499

(*) L'activité spécifique est désignée en coups par minute par mg $BaCO_3$. Les activités spécifiques non déterminées sont désignées par un trait.

tivité spécifique du groupement CH_3- est de 6 fois supérieure à celle du glucose, ce qui prouve que le groupement CH_3- dérive uniquement du $C_{(2)}$.

Le glucose-6-C^{14} donne, outre le CO_2 et l'éthanol non marqués, de l'acide lactique radioactif. L'activité spécifique de l'acide lactique est d'environ 2 fois supérieure à celle du glucose et est localisée uniquement dans le groupement CH_3-. Dans les fermentations 9 et 10 l'activité spécifique du groupement CH_3- fut respectivement de 1245 et de 1477, ce qui prouve que le groupement CH_3- de l'acide lactique dérive uniquement du $C_{(6)}$.

Nous avons trouvé, lors de toutes les fermentations, et ceci en contradiction avec d'autres chercheurs (2, 10, 20), de l'acide acétique. Différentes propriétés furent déterminées de même que différents tests d'identification furent effectués tels :

— la fraction à identifier se comporte comme l'acide acétique sur une colonne de silicagel avec comme liquide d'élution, le mélange benzol-butanol (22, 26). L'acide acétique est nettement séparé des acides propionique et butyrique :
— réaction positive avec La $(NO_3)_2$ et I_2 en milieu ammoniacal (14) ;

- réaction positive avec o-NO_2 benzaldéhyde, spécifique pour l'acétate (14).
— forme caractéristique des cristaux de mercuro-acétate (30) nettement différente des cristaux de propionates et de butyrates.

De ces analyses il ressort sans aucune discussion qu'une certaine quantité d'acide acétique est produite.

2e Série d'expériences : fermentation du glucose marqué par *Leuconostoc mesenteroides* NCDO n° 523.

Les résultats sont mentionnés dans le tableau II.

Des résultats mentionnés au tableau II il apparaît que ceux-ci concordent avec ceux obtenus lors de la fermentation par la souche ATCC n° 12.291.

L'activité spécifique de l'anhydride carbonique est d'environ 6 fois supérieure à celle du glucose-1-C^{14}, alors que l'éthanol et l'acide lactique ne sont quasi pas marqués.

L'éthanol obtenu par fermentation du glucose-2-C^{14} présente une activité spécifique de 3 fois supérieure à celle du glucose ; l'acide lactique et l'anhydride carbonique ont une activité quasi nulle. La fer-

Tableau II

Activité spécifique des produits finaux de fermentation du glucose 1-C^{14}, glucose -2C^{14} et glucose 6-C^{14} par *Leuconostoc mesenteroides* NCDO n° 523.
Croissance anaérobique à 30°C et pH 5-6.

Fermentation n°	Emplacement du glucose marqué	Activité spécifique							
		Glucose	CO_2	Ethanol	Acide acétique	Acide lactique	Acide lactique		
							CH_3—	—CHOH—	—COOH
1	G-1-C^{14}	201	1191	7	55	10	13	9	13
2	G-1-C^{14}	201	1086	—	—	—	—	—	—
3	G-1-C^{14}	174	997	13	49	14	—	—	—
4	G-1-C^{14}	158	925	8	31	1 0	6	—	10
5	G-1-C^{14}	164	973	8	14	4	—	—	—
6	G-1-C^{14}	239	1324	14	—	4	3	2	4
7	G-1-C^{14}	195	1030	24	65	24	—	—	—
8	G-1-C^{14}	140	654	16	50	16	—	—	—
9	G-1-C^{14}	140	737	16	52	10	—	—	—
10	G-1-C^{14}	279	1841	32	50	31	21	5	32
11	G-1-C^{14}	279	1777	32	134	75	—	—	—
12	G-2-C^{14}	276	5	704	520	30	—	—	—
13	G-2-C^{14}	276	10	760	492	38	—	—	—
14	G-6-C^{14}	258	3	7	60	481	—	—	—
15	G-6-C^{14}	258	5	38	71	531	1435	7	14

mentation du glucose-6-C^{14} donne de l'acide lactique, avec une activité spécifique de 2 fois supérieure à celle du glucose et notamment dans le groupement CH_3-.

Il est à remarquer toutefois que la quantité d'acide acétique produite est sensiblement supérieure à celle formée avec la souche ATCC n° 12.291 ; le rapport mmoles acides acétique/mmoles acide lactique ne fut pas constant. Les autres propriétés de cette souche correspondaient totalement avec celles de l'ATCC 12.291.

De la mesure de l'activité spécifique de l'acide acétique on ne peut déduire de quels atomes de carbone celui-ci dériverait. Apparemment l'acide acétique pourrait parvenir de chaque atome de carbone, car celui-ci fut quasi toujours nettement marqué. Une activité spécifique nettement plus élevée fut obtenue toutefois avec le glucose-2-C^{14}, notamment de 520 et 492 (fermentation 12 et 13).

De ces recherches on peut conclure que cette souche peut être employée pour déceler les endroits marqués de la molécule glucose. Il suffit d'obtenir après fermentation l'anhydride carbonique, l'éthanol et l'acide lactique en état pur, de les dégrader par la suite chimiquement et de déterminer l'activité spécifique de chaque échantillon de $BaCO_3$. Le CO_2 parvient du $C_{(1)}$ du glucose, le groupement CH_3- de l'éthanol du $C_{(2)}$ et les groupements-COOH-, -CHOH- et CH_3- de l'acide lactique respectivement du $C_{(4)}$, $C_{(5)}$ et $C_{(6)}$ du glucose.

3e Série d'expériences : fermentation du glucose non marqué par le *Leuconostoc mesenteroides* souche n° 39 de la collection de DeMoss.

Cette recherche fut effectuée dans le but d'étudier d'une façon approfondie la formation de l'acide acétique.

Le milieu nutritif suivant fut employé : extrait de levure 7,5 g ; trypton 12,5 g ; glucose 10 g ; thiamine-hydrochlorure 0,1 g ; NaCl 5 g ; K_2HPO_4 5g ; $MnCl_2$ 0,14 g ; $MgSO_4$ 0,8 g ; $FeSO_4$ 0,04 g ; eau distillée 1 l ; pH 6,8. Stérilisation à 120° C durant 20 minutes. Comme le *Leuconostoc* ne se développa que difficilement dans ce milieu nutritif, on ajouta la solution thiamine, stérilisée préalablement à froid, après stérilisation à 120°C. Les fermentations furent effectuées dans l'appareil Warburg à 30°C avec 15 ml de 0,28 M phosphate tampon, pH 6,4 (1,43 g K_2HPO_4 et 2,6 g KH_2PO_4 dans 100 ml d'eau), 0,5 mmoles de glucose, 3 ml d'une suspension de bactéries et de l'eau stérile jusqu'à un volume total de 40 ml.

Les flacons de fermentation furent préalablement lavés à l'azote durant 10 à 15 minutes. Pour arrêter la fermentation on ajoute 10 ml d'acide métaphosphorique 10 % et on centrifuge.

L'acide lactique est déterminé colorimétriquement d'après la méthode légèrement modifiée de Davidson (8). L'éthanol est distillé et

déterminé colorimétriquement d'après la méthode de Fister (15). L'acide acétique est éliminé par distillation à la vapeur et titré.

Les résultats sont mentionnés dans le tableau III.

Tableau III

Fermentation de 1 mmole glucose par *Leuconostoc mesenteroides* souche DeMoss 39 — quantité exprimée en mmoles.

Produits formés (1)	Valeur moyenne de 7 fermentations	Valeur minima	Valeur maxima
Ethanol	1	0,8	1,2
Acide acétique	0,1	0,05	0,15
Acide lactique	0,85	0,71	0,95
Acide acétique / Acide lactique — Rapport :	0,12	0,07	0,16

(1) Le CO_2 n'est pas mentionné dans ce tableau.

Des résultats du tableau III il apparaît à nouveau la formation de l'acide acétique.

La fermentation du glucose d'après des récentes données de Elsden & Peel (13), Hurwitz (21) et Ciferri (7) par le *Leuconostoc mesenteroides* présenterait en milieu anaérobique le schéma suivant.

Glucose + ATP → glucose -6-P + ADP.
Glucose -6-P → Ribulose-5-P + CO_2 + 4(H)
Ribulose-5-P → Xylulose-5-P.
Xylulose-5-P + Pi → Acetyl-P + triose-P.
Acetyl-P + 4(H) → Ethanol + Pi.
Triose-P + Pi + 2 ADP → Acide pyruvique + 2(H) + 2 ATP.
Acide pyruvique + 2(H) → acide lactique.

Glucose + Pi + ADP → CO_2 + Ethanol + acide lactique + ATP.

L'acétyl-P serait transformé en acétate en présence de l'ADP d'après la réaction Acétyl-P + ADP → acétate + ATP. DeMoss et Gibbs (11) constatent que le *Leuconostoc mesenteroides* souche 39 fermente le glucose en milieu aérobique et anaérobique avec formation de CO_2, éthanol et acide lactique.

Johnson et McCleskey (23) font remarquer que, parmi les souches étudiées, seul le *Leuconostoc mesenteroides* souche 39 n'était pas à même d'employer l'oxygène comme accepteur d'hydrogène.

La souche 548 D donna en milieu aérobique le schéma suivant :

1 mole glucose + 1 mole O_2 → 1 mole CO_2 + 1 mole acétate + 1 mole acide lactique.

Nous référant au schéma préconisé par Elsden et Peel (13) on peut expliquer ce schéma en admettant que les 4-H-atomes, libérés par l'oxydation de 1 mole de glucose en 1 mole de ribulose-5-P avec libération de 1 mole d'anhydride carbonique, sont fixés par 1 mole d'oxygène de sorte que l'acétyl-P-formé n'est pas réduit, mais transformé en acide acétique.

Comme dans nos expériences on constata toujours la formation d'acide acétique en milieu anaérobique, nous avons voulu vérifier si le *Leuconostoc mesenteroides* souche n° 39 était en mesure d'utiliser de l'oxygène.

La formation de CO_2 et l'absorption d'oxygène furent mesurées avec la technique de Warburg « direct method for carbondioxyde » (32). Dans des récipients de Warburg d'une contenance totale de 15 ml on apporta successivement 50 μmoles glucose ; 280 μmoles tampon phosphate ; 0,2 ml KOH 10 % et 0,5 ml d'une suspension de bactéries ; volume total 2,5 ml, température 30°C, milieu aérobique.

Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau IV.

Tableau IV

Oxygène absorbé et CO_2 formé par différentes souches de *Leuconostoc mesenteroides*

Souche	Durée	Valeurs moyennes en μmoles par 100 μmoles de glucose	
		CO_2 formé	O_2 absorbé
DeMoss 39	1-5 h	145 (4) (*)	25 (4)
ATCC 12291	2 h	113 (2)	16 (2)
NCDO 523	2-4 h	145 (3)	97 (3)

(*) Le chiffre entre parenthèse indique le nombre de fermentations

Des résultats du tableau IV il apparaît que :

1°) le *Leuconostoc mesenteroides* souche 39 peut donc utiliser de l'oxygène et de ce fait la formation de l'acide acétique en milieu aérobique d'après le schéma de Elsden et Peel (13) est expliqué.

De nouvelles expériences furent effectuées avec la même souche, mais cultivée anaérobiquement durant 1 mois par ensemencement renouvelé tous les 2 jours. Avant la fermentation les bactéries furent cultivées aérobiquement durant 3 jours par ensemencement journalier. Nous constatâmes que 100 μmoles de glucose donnèrent lieu à la formation de 158 μmoles CO_2 et que 34 μmoles O_2 furent utilisés ; la durée de la fermentation fut de 5 h.

2°) le *Leuconostoc mesenteroides* ATCC 12.291 présenta l'utilisation la plus petite en oxygène.

3°) la souche NCDO 523 utilisa par mole de glucose, circa 1 mole d'oxygène comme ce fut le cas pour la souche 548 D de Johnson et McCleskey (23).

La production élevée en CO_2 pour les 3 souches est probablement due à la combustion de l'acide lactique après épuisement du milieu nutritif en glucose.

Des expériences effectuées en milieu anaérobique donnèrent des valeurs moyennes en CO_2 de 1 mole par mole de glucose et forcément aucune absorption d'oxygène.

Nos résultats obtenus avec la souche 39 concernant l'absorption d'oxygène et la formation de l'acide acétique en milieu anaérobique sont donc différents de ceux de Johnson & McCleskey (23) et de De-Moss *et al.* (11).

Remarquons toutefois que Blackwood *et al.* (4) lors de la fermentation effectuée avec du glucose marqué, en milieu strictement anaérobique au moyen des souches de Johnson *et al.* (23) qui absorbent de l'oxygène, trouvèrent de 3 à 10 μmoles d'acide acétique par 100 μ moles de glucose. Ces valeurs en acide acétique sont du même ordre de grandeur que celles trouvées par nous avec la souche 39.

4e Série d'expériences : fermentation du glucose-1-C^{14} par *Leuconostoc dextranicum* NCDO 517.

Les résultats sont mentionnés au tableau V.

Tableau V

Fermentation du glucose-1-C^{14} par *Leuconostoc dextranicum* NCDO n° 517

N°	G-1-C^{14}	Activité spécifique						
		CO^2	Ethanol	Acide acétique	Acide lactique	Acide lactique		
						$-CH_3$	—CHOH—	—COOH
1	171	933	24	64	10	—	—	—
2	171	935	7	44	6	—	—	15
3	148	914	28	84	20	5	1	26
4	158	975	11	52	10	6	1	11
5	239	1155	16	90	12	17	2	18
6	239	1274	24	99	13	15	19	8
7	140	794	11	36	10	—	—	—
8	140	844	12	36	11	—	—	—

Des résultats du tableau V il apparaît que le CO_2 formé durant la fermentation est radioactif, alors que l'éthanol et l'acide lactique ne le sont quasi pas. Ceci prouve la transformation quantitative du $C_{(1)}$ du glucose en CO_2. L'activité spécifique du CO_2 est de 6 fois celle du glucose, de sorte que cette fermentation peut être employée comme méthode biologique de dégradation du glucose.

Les quantités formées d'éthanol, d'acide lactique et d'acide acétique sont du même ordre de grandeur que celles formées par le *Leuconostoc mesenteroides*.

Pour ce qui concerne l'activité de l'acide acétique, la même observation peut être faite comme pour le *Leuconostoc mesenteroides*.

De ces recherches il apparaît que le *Leuconostoc dextranicum*, une bactérie lactique hétérofermentative, a des propriétés similaires à celles de *Leuconostoc mesenteroides*.

5e Série d'expériences : fermentation du glucose marqué par des souches de *Lactobacillus casei*, NCDO 151 et 17-R (notre collection).

Le *Lactobacillus casei*, une bactérie lactique homofermentative, fermenta le glucose avec formation d'acide lactique. Du CO_2 et de l'éthanol ne furent jamais formés et des autres acides ne furent produits qu'en minime quantité. Le processus de dégradation fut le schéma de la glycolyse d'Embden-Meyerhof.

Le but de ces expériences était de rechercher si une souche thermotolérante de *Lactobacillus casei* fermente le glucose d'après le même mécanisme.

Les résultats sont mentionnés au tableau VI.

Des résultats du tableau VI il apparaît que la fermentation du glucose-1-C^{14} suit le schéma d'Embden-Meyerhof (fermentations 1, 2, 5 et 6). L'activité spécifique de l'acide lactique est quasi identique à celle du glucose-1-C^{14} et est liée uniquement au groupement CH_3-.

La fermentation par le *Lactobacillus casei* 17-R, souche thermotolérante, est la même que celle du *Lactobacillus casei* NCDO 151 (fermentations 3 et 4).

Des fermentations avec du glucose marqué en d'autres endroits prouvent nettement que le *Lactobacillus* dégrade le glucose d'après le schéma de la glycolyse (fermentations 7 à 10).

L'acide lactique est actif dans le groupement CH_3- lorsque le glucose-1-C^{14} est fermenté et dans le groupement -CHOH- pour le glucose -2-C^{14}.

Nous constatâmes également la formation de petites quantités de l'acide acétique. Ceci n'est pas en contradiction avec le caractère ho-

mofermentatif du *Lactobacillus casei* car la formation unique de l'acide lactique, avec exclusion de traces d'un autre acide, est exclue.

TABLEAU VI

Fermentations du glucose-1-C^{14}, glucose-2-C^{14} et glucose-6-C^{14} par *Lactobacillus casei* NCDO n° 151 et de *Lactobacillus casei* n° 17-R (souche thermotolérante) Température d'incubation 30°C ; pH 6 à 6,5.

N°	Culture	Activité spécifique					
		Glucose C^{14}	Glucose	Acide lactique	Acide lactique		
					$-CH_3$	—CHOH—	—COOH
1	L. Casei 151	Glucose-1-C^{14}	140	131	383	3	4
2	L. Casei 151	Glucose-1-C^{14}	140	119	351	1	5
3	L. Casei 17-R	Glucose-1-C^{14}	140	120	354	2	4
4	L. Casei 17-R	Glucose-1-C^{14}	140	128	375	0	9
5	L. Casei 151	Glucose-1-C^{14}	279	294	867	12	33
6	L. Casei 151	Glucose-1-C^{14}	279	294	873	1	8
7	L. Casei 151	Glucose-2-C^{14}	276	243	4	642	11
8	L. Casei 151	Glucose-2-C^{14}	276	249	0	740	1
9	L. Casei 151	Glucose-6-C^{14}	258	254	—	—	—
10	L. Casei 151	Glucose-6-C^{14}	258	266	787	1	10

BIBLIOGRAPHIE

(1) ALTERMATT, H. A., BLACKWOOD, A. C., and NEISH, A. C., *Can. J. Biochem.*, **33**, 622 (1955).
(2) BERNSTEIN, I. A., LENTZ, K., MALM, M., SCHAMBYE, P. and WOOD, H. G., *J. Biol. Chemistry*, **215**, 137 (1955).
(3) BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology 7 th ed. (1957).
(4) BLACKWOOD, A. C. and BLAKLEY, E. R., *J. Bacteriol.*, **79**, 411 (1960).
(5) CALVIN, M., HEIDELBERGER, Ch., REID, J. C., TOBERT, B. M. and YANKWICH. P. F. John Wiley & Sons. Inc. New York 94 (1949).
(6) CHRISTENSEN, M. D., ALBURY, M. N. and PEDERSON, C. S. *Appl. Microbiol.*, **6**, 316 (1958).
(7) CIFERRI, O. and BLAKLEY, E. R. *Can. J. Microbiol.*, **5**, 547 (1959).
(8) DAVIDSON, S. *J. Dairy Research*, **16**, 209 (1949).
(9) DEMOSS, R. D., *J. Bacteriol.*, **68**, 252 (1954).
(10) DEMOSS, R. D., BARD, R. C. and GUNSALUS, I. C., *J. Bacteriol.*, **62**, 499 (1951).
(11) DEMOSS, R. D. and GIBBS, M. *J. Bacteriol.*, **70**, 730 (1955).
(12) DEMOSS, R. D., GUNSALUS, I. C. and BARD, R. C., *J. Bacteriol.*, **66**, 10 (1953).
(13) ELSDEN, S. R. and PEEL, S. P., *Ann. Rev. Microbiol.*, **12**, 147 (1958).
(14) FEIGL, F., Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen, 408 (1953).

(15) Fister, H. I., Manuel of Standardized Procedures for Spectrophotometric Chemistry E 10_{a1} E10_{a2}.
(16) Gibbs, M. and DeMoss, R. D. *Arch. Biochim. and Biophys.*, **34**, 478 (1951).
(17) Gibbs, M. and DeMoss, R. D., *Federation Proc.*, 10, 189 (1951).
(18) Gibbs, M., Dumrose, R., Bennet, F. and Bubeck, M. R., *J. Biol. Chemistry*, **184**, 545 (1950).
(19) Gibbs, M., Sokatch, J. T. and Gunsalus, I. C., *J. Bacteriol.*, **70**, 572 (1955).
(20) Gunsalus, I. C. and Gibbs, M., *J. Biol. Chemistry*, **194**, 871 (1952).
(21) Hurwitz, S. *Biochem. et Biophys. Acta*, **28**, 599 (1958).
(22) Isherwood, F. A., *Biochm. J.*, **40**, 688 (1946).
(23) Johnson, M. K. and McCleskey, C. S., *J. Bacteriol.*, **74**, 22 (1957).
(24) Koshland and Westheimer, *J. Am. Chem. Soc.*, 72, 3383 (1950).
(25) McCleskey, C. S. Favilie, L. W. and Barnett, R. O., *J. Bacteriol.*, **54**, 697 (1947).
(26) Neish, A. C., *Can. J. Research*, B. 27, 6 (1949).
(27) Nelson, M. E. and Werkman, C. H. *J. Bacteriol.*, **30**, 547 (1935).
(28) Pederson, C. S., *N. Y. State Ag. Expt. Sta. Tech. Bull.*, 151 (1929).
(29) Pederson, C. S. and Albuty, M. N., *J. Bacteriol.*, **70**, 702 (1955).
(30) Ramsey, H. H. and Patterson, W. I., *J. Ass. Off. Agr. Chem.*, **28**, 644 (1945).
(31) Phares, E. F., *Arch. Bioch. and Biophys.*, **33**, 173 (1951).
(32) Umbreit, W. W. *et al.*, Manometric Techniques and Tissue Metabolism.
(33) Van Slijcke, D. D. and Folch, J., *J. Biol. Chemistry*, **136**, 509 (1940).

Résumé

Le but de ces expériences fut de déterminer le processus de fermentation anaérobique du glucose à 30° C à l'aide du glucose -1-C^{14}, glucose -2-C^{14} et glucose -6-C^{14} par des bactéries lactiques.

Les bactéries homofermentatives et hétérofermentatives étudiées furent le *Lactobacillus casei* NCDO 151 de même que la souche thermotolérante 17-R de notre propre collection, le *Leuconostoc mesenteroides* souches ATCC 12291 et NCDO 523 et le *Leuconostoc dextranicum* NCDO 517.

Les résultats obtenus avec le *Lactobacillus casei* NCDO 151 et la souche thermotolérante 17-R montrèrent qu'il n'y avait pas de différence dans le méchanisme de dégradation du glucose. Les deux souches se comportèrent d'après le schéma d'Embden-Meyerhof.

Des résultats obtenus avec les 2 souches de *Leuconostoc mesenteroides*, il apparait que le CO_2 marqué dérive du glucose -1-C^{14} et que le groupement CH_3- marqué, de l'éthanol et de l'acide lactique, dérive respectivement du glucose -1-C^{14} et du glucose -6-C^{14}.

Des radioactivités du CO_2, de l'éthanol et de l'acide lactique il apparait probable que ces souches de *Leuconostoc mesenteroides* dégradent le glucose d'après le « hexose-monophosphate pathway ».

Lors des fermentations avec le *Leuconostoc dextranicum* on constata que le groupement aldéhydique du glucose fut transformé quantitativement en CO_2.

En discordance avec la littérature, nous avons toujours constaté avec les 3 souches de *Leuconostoc mesenteroides*, notamment ATCC 12291, NCDO 523 et DeMoss 39, et avec *Leuconostoc dextranicum* NCDO 517, sans le moindre

doute, la formation en milieu anaérobique de l'acide acétique radioactif. De la mesure de l'activité spécifique de l'acide acétique on ne peut déduire de quels atomes de carbone du glucose celui-ci dériverait.

Les 3 souches de *Leuconostoc mesenteroides* utilisent de l'oxygène en quantité variable et forment des quantités différentes de l'acide acétique. La souche NCDO 523, la plus active, absorbe environ 1 mmole par mmole de glucose et forme la plus grande quantité d'acide acétique par mmole de glucose en milieu anaérobique.

Fermentation of -C^{14} glucose by lactic bacteria

SUMMARY

The object of this experiment was to determine the anaerobic fermentation process of glucose at 30 C° by lactic bacteria using glucose -1-C^{14}, glucose -2-C^{14} and glucose -6-C^{14}.

The homo- and heterofermentative bacteria studied were *Lactobacillus casei* NCDO 151, the thermotolerant 17-R strain of our own collection, *Leuconostoc mesenteroides* strains ATCC 12291 and NCDO 523 and *Leuconostoc dextranicum* NCDO 517.

The results obtained with *Lactobacillus casei* NCDO 151 and the thermotolerant 17-R strain showed no difference in the mechanism of glucose break-down. Both strains followed the Embden-Meyerhof pathway.

From the results with the two *Leuconostoc mesenteroides* strains it appears that the labelled CO_2 derived from the glucose -1-C^{14}, the labelled CH_3- group of the ethyl alcohol and the lactic acid derive from the 2-C^{14} and 6-C^{14} glucose respectively.

From the CO_2, ethanol and lactic acid activities measured, it seems probable that these *Leuconostoc mesenteroides* strains ferment glucose according to the hexose-monophosphate pathway.

In fermentations with *Leuconostoc dextranicum* it was found that the glucose aldehyde group was quantitatively transformed in CO_2.

In disagreement with the literature, radioactive acetic acid was always found under anaerobic conditions by the three *Leuconostoc mesenteroides* strains (ATCC 12291, NCDO 523 and De Moss 39) and *Leuconostoc dextranicum* NCDO 517. It is not possible to deduce from which carbon atoms it derives, by specific activity measurements of the acetic acid produced.

The three *Leuconostoc mesenteroides* strains used oxygen in varying quantities and form different quantities of acetic acid. The most active strain, NCDO 523, absorbs approximately 1 mmole per mmole of glucose and forms the greatest quantity of acetic acid per mmole of glucose under anaerobic conditions.

Glukose -C^{14} vergärung durch Milchsäurebakterien

ZUSAMMENFASSUNG

Das Ziel der hiesigen Untersuchungen war bei verschiedenen Milchsäurebakterien der anaerobische Vergärungsvorgang bei 30° C mittels Glukose -1-C^{14}, Glukose-2-C^{14}, und Glukose-6-C^{14} zu bestimmen.

Folgende Stämme kamen in Betracht zur Prüfung : Lactobacillus casei NDCO 151, Lactobacillus casei 17-R (thermotolerant), Leuconostoc mesenteroides ATCC 12291, NCDO 523, und Leuconostoc dextranicum NCDO 517.

Die erhaltenen Resultate mit Lactobacillus casei Stämme zeigten dass keine Unterschiede in der Glukose Abbau auftraten. Die Stämme verhielten sich nach dem Embden-Meyerhof Schema.

Die erhaltenen Resultate mit den Leuconostoc mesenteroides Stämme zeigten dass der aktive CO_2 stammte aus der Glukose -1-C^{14} und dass die aktiven methylgruppen von dem Ethanol und der Milchsäure stammten, beziehungsweise, aus Glukose -2-C^{14} und Glukose -6-C^{14}.

Aus der Radioaktivität des CO_2, Ethanols und Milchsäures erscheint es wahrscheinlich dass die Leuconostoc mesenteroides Stämme Glukose abbauen nach dem « hexose monophosphate pathway ».

In der Vergärung mit Leuconostoc dextranicum wurde die Glukosealdehydgruppe kwantitativ in CO_2 umgewandelt.

In Gegensprache mit der Literatur, haben wir festgestellt dass mit den drei Leuconostoc mesenteroides Stämme, ATCC 12291, NCDO 523, DeMoss 39 und Leuconostoc dextranicum NCDO 517, ohne Zweifel Bildung von radioaktive Essigsäure in anaerobisch Milieu auftrat. Aus der spezifischen Aktivitätsmessung von der Essigsäure konnte nicht mit Sicherheit geklärt werden aus welchen C Atomen diese Aktivität stammte.

Die drei Leuconostoc mesenteroides Stämme verbrauchen Sauerstoff und bilden Essigsäure in wechselenden Mengen. Der Stamm NCDO 523 welche der Grösste Sauerstoffverbrauch zeigt, nämlich 1 mmol pro mmol Glukose, bildet in anaerobisch Milieu, die grösste Menge.

L'absorption et la distribution tissulaire du P^{32} chez le rat et le jeune ruminant

par A. Burny et J. Guiot
Assistants (IRSIA), Institut agronomique de l'État, Gembloux (Belgique)

avec la collaboration technique de L. Dispaux et R. Vanhougardine

Plaque tournante du métabolisme glucidique, le phosphore (P) joue aussi un rôle essentiel dans les processus de transformation des lipides. Il fait, en outre, partie intégrante des acides nucléiques. Seules ses combinaisons protéiques sont relativement peu représentées. On pourrait presque dire que « activité cellulaire » et « teneur en phosphore » sont deux expressions synonymes. Ainsi se trouvent posées à la fois, l'importance de cet élément et la difficulté de son étude.

La zootechnie, science appliquée par excellence, s'adresse à un nombre restreint d'espèces animales et postule la connaissance aussi parfaite que possible des grands stades physiologiques de la vie : la croissance, la gestation, la lactation. Ces exigences commandent le choix du matériel expérimental.

Planification expérimentale

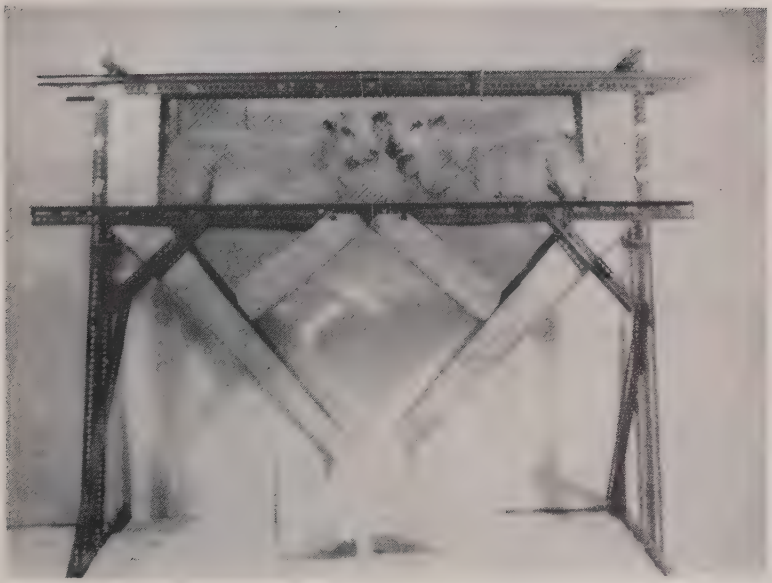
Nous utilisons indifféremment le mouton et le rat. Ce dernier est un représentant des monogastriques, l'autre a la physiologie type des polygastriques.

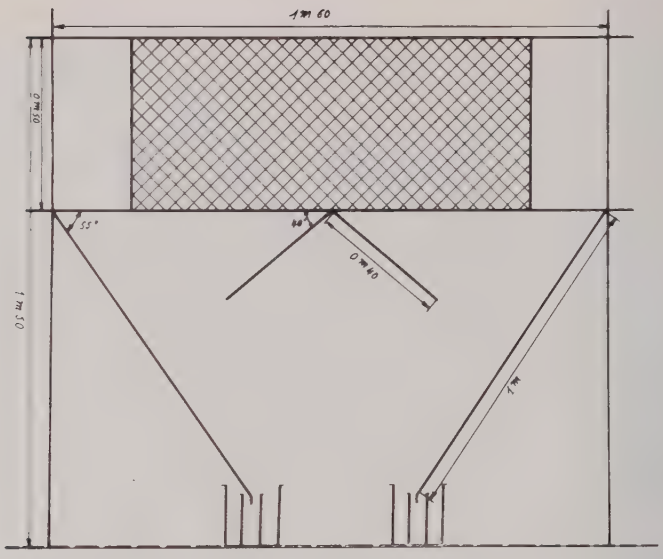
Cet exposé sera consacré aux résultats obtenus avec de jeunes agneaux recevant uniquement une alimentation lactée.

1. Cage à métabolisme (voir photos, p. 697 et schéma, p. 698).

La cage à métabolisme ainsi conçue peut recevoir deux jeunes agneaux. Grâce à son ossature construite en matériel « Dexion », elle est facilement extensible en tous sens, et adaptable à chaque couple d'animaux.

La séparation urine-matières fécales est obtenue par cheminement sur une gouttière en tôle galvanisée, judicieusement inclinée. A l'extrémité inférieure de celle-ci, l'urine s'écoule dans un récipient à col étroit, tandis que les fèces, de par leur vitesse, franchissent ce cap et viennent





se déposer dans un deuxième et large vase en verre qui contient le premier.

Enfin, une petite gouttière de direction opposée à la première permet, avec élégance, d'expérimenter sur animaux mâles.

2. Administration de l'isotope

Elle se fait par sonde stomacale au cours du repas.

3. Prélèvement des organes ou tissus

Après des temps croissants d'ingestion, l'animal est sacrifié et les organes ou tissus suivants prélevés :

a) Viscères digestifs : rumen, caillette, duodénum et jejunum.

b) Sang, foie, rate, rein, cœur, poumon, muscle, cerveau, vertèbre, fémur.

4. Analyses

a) Un échantillon des organes ou tissus prélevés est minéralisé par $HNO_2 - H_2O_2$. On y mesure l'activité et la teneur en phosphore chimique.

b) Des échantillons de : sang, foie, rate, rein, rumen, ont été prélevés aussi rapidement que possible et gelés dans la neige carbonique. Nous y avons, dans la suite, séparé
— le phosphore acidosoluble : P inorganique et esters phosphoriques.
— le phosphore lipidique : phospholipides.

— le phosphore nucléique : acide désoxyribonucléique et acides ribonucléiques. Cette fraction renferme en outre des phosphoprotéines et des esters phosphoriques liés aux protéines.

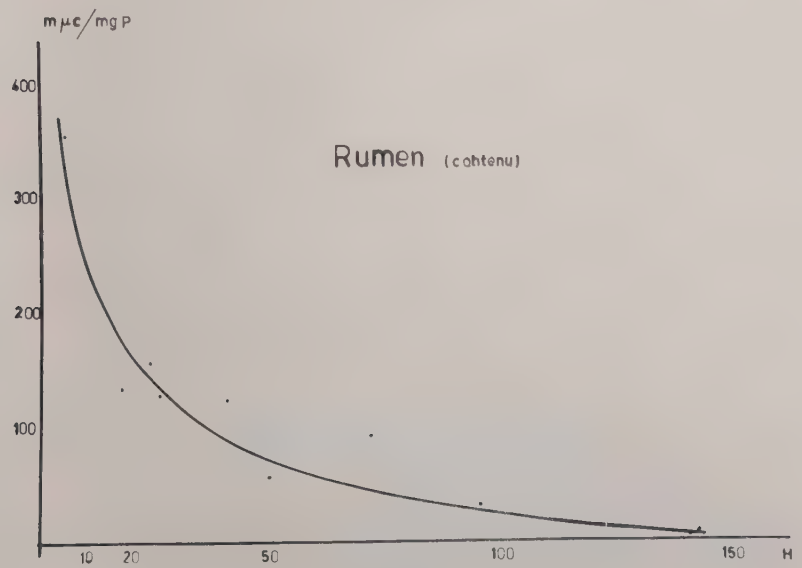
La méthode utilisée est celle de Schmidt et Tannhauser (1) légèrement modifiée. Le phosphore acidosoluble est, en effet, obtenu après rois extractions successives à froid par l'acide trichloracétique à 7 %.

Résultats

Disons, dès à présent, qu'il s'agit d'expériences en cours et que ces tésultats sont susceptibles d'être complétés ultérieurement.

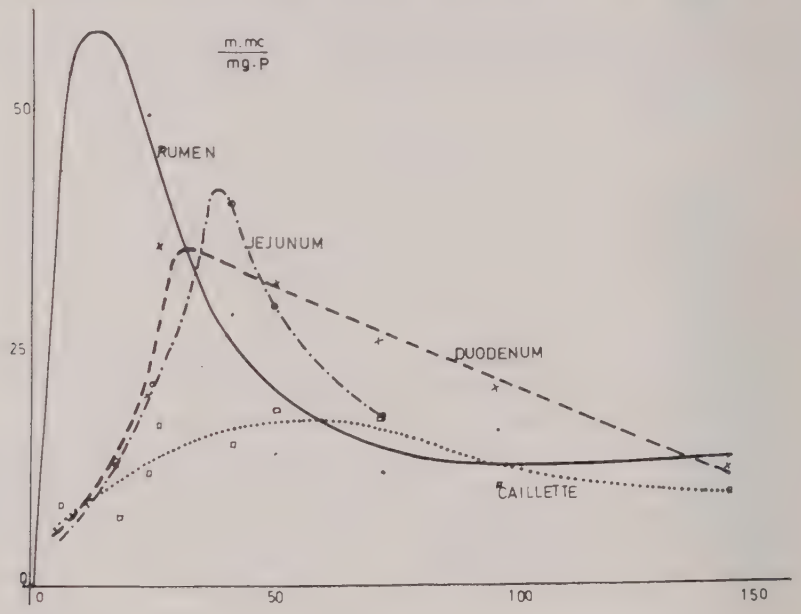
1. Viscères digestifs

Sur un premier graphique, nous avons représenté l'évolution de l'activité spécifique du contenu du rumen (graphique 1). La courbe a l'allure d'une branche d'hyperbole. Cette forme de décroissance se retrouve d'ailleurs mais décalée dans le temps, dans l'organe lui-même (graphique 2). Notons cependant qu'après 100 heures le minimum est atteint dans l'organe alors que l'activité du bol alimentaire continue de décroître. Sans doute, y a-t-il établissement d'un équilibre entre le sang et la paroi du rumen.



Graphique 1

L'activité spécifique de la caillette n'atteint jamais un niveau très élevé. La courbe présente un maximum très étalé et peu précis. La caillette, estomac digérant, ne semble pas justifier ici cette appellation.



Graphique 2

Duodénum et jejunum sont très voisins dans leur phase ascendante. Un accident nous a empêché de suivre le jejunum suffisamment loin. Le duodénum, pour sa part, passe au maximum peu de temps après le rumen et décroît lentement suivant une droite.

Une conclusion s'impose : le comportement de la caillette nécessite une investigation approfondie. Le dosage de son activité phosphatasique nous éclairera peut-être.

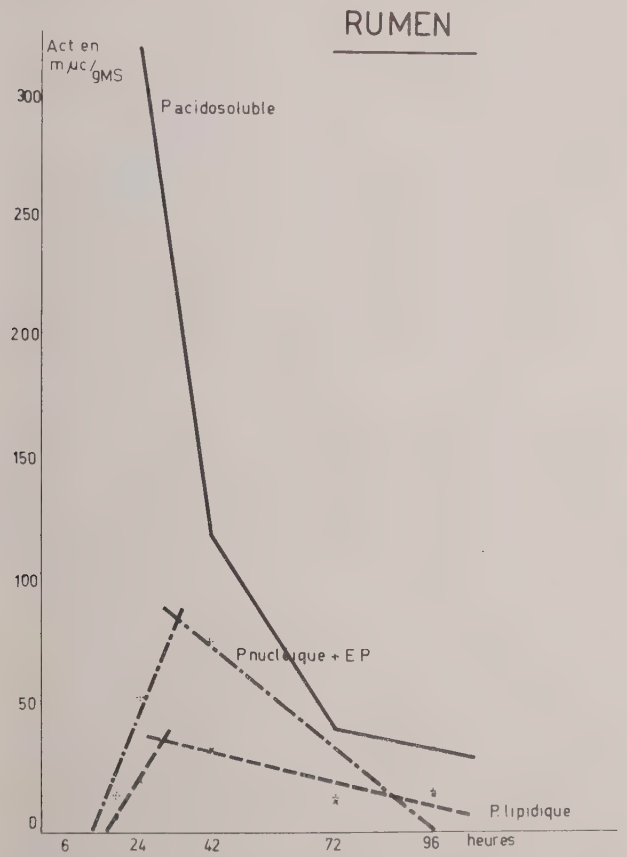
La considération des fractions phosphorées isolées du rumen (graphique 3) montre que l'activité acidosoluble dépasse, et de loin, celle de la portion nucléique et celle de la portion lipidique.

Cet état de choses se conçoit aisément quelle que soit l'opinion que l'on ait sur le mode de transport du P au-delà de la muqueuse digestive.

a) phosphorylation d'une molécule d'hexose sur la membrane cellulaire puis transfert de l'ensemble formé Goodman et Rothstein (2), Windisch et Coll (3).

b) Pénétration ionique, avec ou sans un rôle fondamental du calcium au cours de celle-ci. De toutes manières, tout au long de cette pénétration le P est acidosoluble.

« Un autre travail semble intéressant ici, c'est le fractionnement de ce que nous avons appelé « phosphore nucléique + esters phosphoriques » liés aux protéines ». En effet, ce maximum de 90 muc/gr M.S. n'est atteint que par la rate et chacun connaît le rôle de réservoir nucléique que constitue cette dernière.



Graphique 3

2. Organes et tissus

Un gradient d'activité spécifique décroissante part du sang (graphiques 4 et 5) pour aboutir au cerveau en passant par le foie, le rein, le cœur, la rate, le poumon, le muscle, la vertèbre et le fémur.

Nous diviserons cet ensemble en deux groupes :

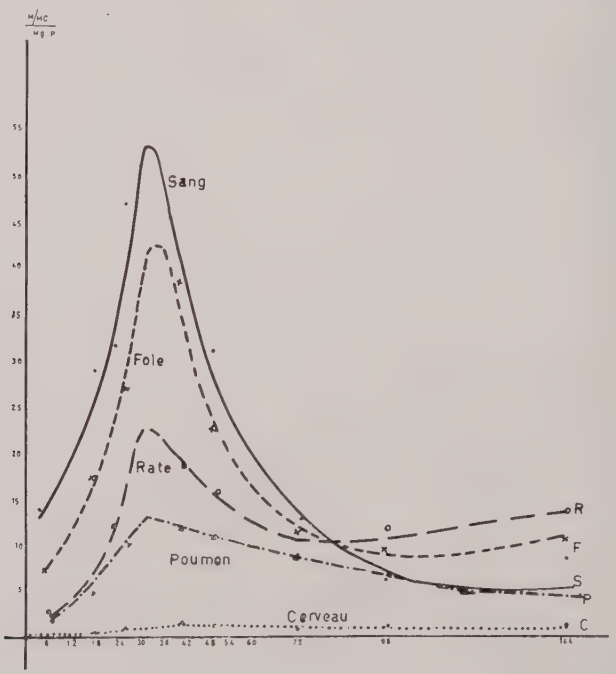
a) les tissus ou organes essentiellement de transfert.

b) les tissus de stockage : tissus musculaires, tissus osseux, cerveau.

A. On distingue :

1) une phase d'accumulation rapide qui n'est pas, remarquons le, la mesure directe de la vitesse d'un métabolisme, celui-ci étant compris comme l'élimination d'un produit de synthèse. Des phénomènes de stockage peuvent en effet, interférer (Ex du glycogène dans le foie).
2) Une phase de disparition de la radioactivité. C'est cette partie de la courbe qui, exprimée logarithmiquement et extrapolée au temps zéro, mesure la cinétique métabolique d'un organe.

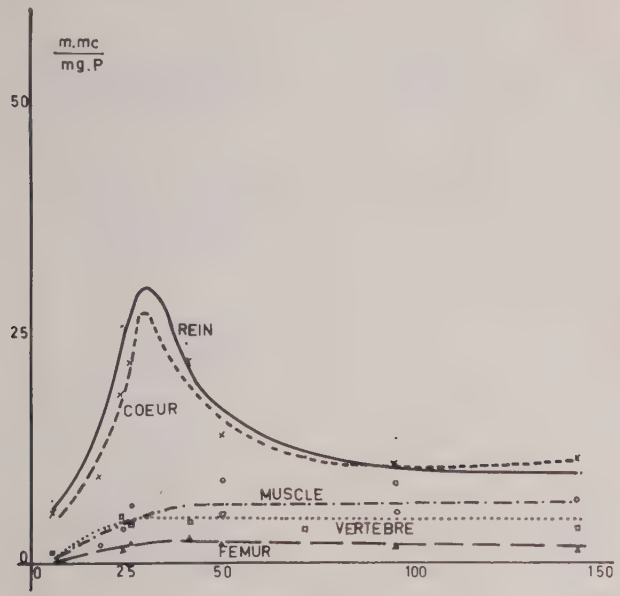
Ces deux phases sont séparées par un maximum situé environ 30 heures après ingestion de l'isotope alors que chez le rat, comme nous l'avons montré antérieurement, le pic se manifeste pour certains organes 5 heures déjà après l'ingestion.



GRAPHIQUE 4

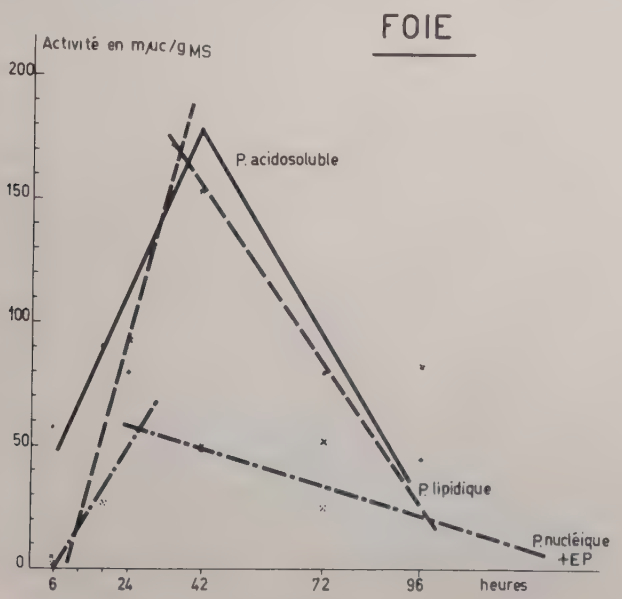
Le sang

C'est le tissu le plus étudié, en médecine surtout. L'analyse mathématique des courbes de décroissance permet l'estimation de la masse du fonds commun. Toute modification de la masse du fonds ou de sa vitesse d'évolution est ainsi directement appréciée. Milieu de distri-



Graphique 5

bution et d'échanges (voir la proportion relative de P acidosoluble), le sang se classe normalement en tête. Les trois fractions phosphorées séparées (graphique 6) évoluent de la même façon et sont toutes trois faibles (car exprimées en fonction de la matière sèche).

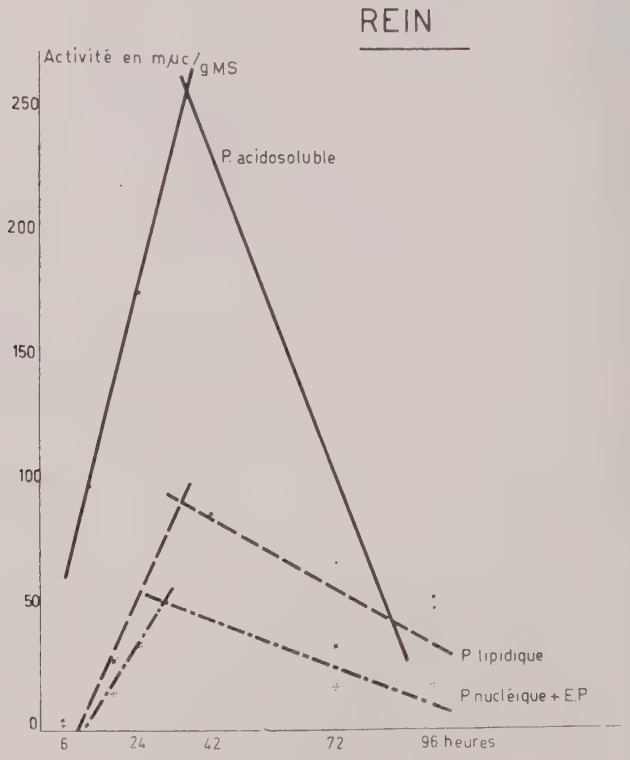


Graphique 6

Le foie

Organe clef de l'économie, il joue un rôle de premier plan dans l'utilisation des glucides et des lipides. C'est à ce titre surtout qu'il intéresse le nutritionniste.

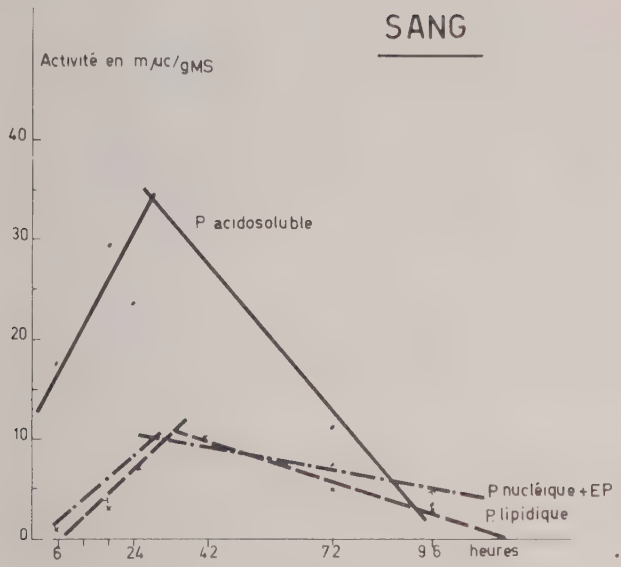
Le parallélisme intime entre P acidosoluble et P lipidique (graphique 6) suggère soit qu'un ester phosphorique n'est pas dans le foie précurseur de phospholipides, soit que le passage du P d'un type de molécule à l'autre est très rapide.



GRAPHIQUE 7

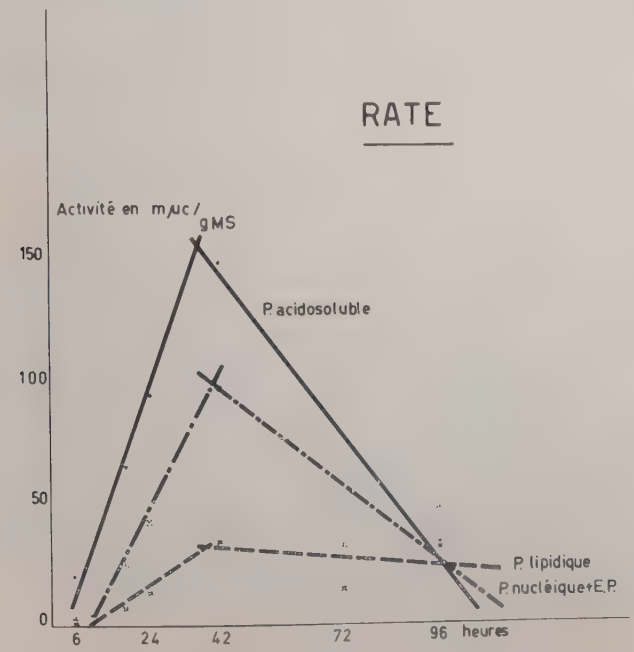
Le rein, le cœur, la rate

Le rein (graphique 7) représente à lui seul un douxième du métabolisme de base. Il filtre journellement des dizaines de litres de sang. La résorption du P dans la circonvolution distale se fait en effet sous forme de PO_4 par un système perméasique. Ces considérations suffisent à expliquer la très forte part du P acidosoluble dans la concentration globale.



Graphique 8

Quant à la rate (graphique 9), elle traduit fidèlement son rôle d'organe hématopoiétique par excellence par sa teneur élévée en P nucléique. C'est le seul des organes envisagés qui montre un marquage appréciable de l'acide désoxyribonucléique.



Graphique 9

Nous avons laissé le cœur (graphique 5) en dernier lieu pour le comparer à un muscle du squelette. L'écart est net. Le muscle de la vie végétative capte nettement plus de P que celui de la vie animale. A la lumière des connaissances actuelles il n'est pas possible d'expliquer biochimiquement la chose. On a impliqué tour à tour la phosphocréatine, l'A.T.P., le pyrophosphate d'être la porte d'entrée du P dans le muscle : Harvey (4), Sachs et Altshuler (5), Dixon et Sachs (6).

Une chose est certaine : le travail musculaire n'accélère pas l'entrée du P.

Fleckenstein et Coll (7) constatent même une baisse marquée dans le rythme de pénétration du P dans la phosphocréatine et dans ATP lors de travail musculaire. Il y a accélération de la pénétration pendant la période de récupération inversément à ce qui se passe pour le potassium.

B. Nous venons de parler du muscle. Il nous reste à envisager le tissu osseux et le cerveau. Ces entités sont voisines pour des raisons opposées. L'os (graphique 5) capte le P_{32} extrêmement vite mais garde une faible activité spécifique vu sa richesse minérale. Le cerveau pour sa part capte très peu de P_{32}. Notons ici que l'activité thryoïdienne affecte directement la rétention du P_{32} par les centres nerveux supérieurs (Milcou et Coll (8).

Ces organes de stockage constituent pour l'animal un réservoir. Aux phases critiques de sa vie, notamment lors de gestation et de lactation importante, c'est là qu'il ira puiser. C'est à ce niveau qu'un élevage irrationnel aura les plus graves conséquences.

Nous tenons tout particulièrement à remercier ici Monsieur le Professeur Hennaux ainsi que nos collègues C. Bodart et P. Vandenbyvang pour les nombreux conseils qu'ils nous ont prodigués et l'aide efficace qu'ils nous ont fournie tout au long de ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

1. Schmidt G. et Thaunhauser S. J. *J. Biol. Chem.*, 1945, 161, 83.
2. Goodman et Rothstein. *J. Gén. Physiol.*, **40**, 915-23 (1957).
3. Windisch F., Heumann, W. et Nordheim W. *Natuurwiss.*, **42**, 649 (1955).
4. Harvey S. C. *Am. Jl. Physiol.*, **183**, 559-64 (1955).
5. Sachs J. et Altshuier C. H. *Am. Jl. Physiol.*, **136**, 750-60 (1942).
6. Dixon G. J. et Sachs J. *Proc. of the second Intern. Conf. Geneva* (1958).
7. Fleckenstein A., Janke J. et Davies R. E. *Arch. exp. pathol. Pharmakol*, 228, 596-614 (1956).
8. Milcou S. M., Costiner E., Nicolescou-Zinka D. et Vaisier L. *Proc. of the Second Itern. Conf. Geneva* (1958).

(Travail effectué a la Chaire de Zootechnie de l'Institut Agronomique de l'État a Gembloux en collaboration avec la Chaire de Physique Générale, sous les auspices de l'IRSIA).

Résumé.

Chez le rat blanc en fin de croissance, un gradient d'activité décroissante part du foie pour aboutir au cerveau en passant par l'os, la rate, le sang et le muscle.

La courbe d'évolution de l'activité des organes en fonction du temps, passe par un maximum cinq heures après l'ingestion du traceur. Au-délà du maximum, la décroissance est nette (foie, fémur, rate, sang) ou nulle (muscle, cerveau).

Ces deux dernières entités se comportent d'ailleurs d'une manière identique chez le jeune ruminant, l'agneau. Ici cependant, la rate, organe hématopoiétique par excellence, et le système osseux, en pleine formation, se classent, eux aussi parmi les « fixateurs » de P^{32}.

Le rythme de la digestion a une répercussion directe sur l'activité des muqueuses absorbantes succesives : le rumen, la caillette et le duodenum.

Absorption and distribution of P^{12} in rat and young ruminant tissues

Summary

In the full grown white rat, a decreasing activity gradient starts from the liver to end up in the brain, passing through the bone tissue, the milt, the blood and the muscle.

The graph showing the course of the activity in the various organs as a function of time, reaches a peak five hours after ingestion of the tracer. After this peak there appears either a sharp drop (liver, femur, milt, blood) or no decrease at all (muscle, brain).

The latter two entities show an identical behaviour in the young ruminant, the lamb. In this case however, the milt, an hematopoïetic organ in the highest sense of the word, and the bone system in full development, also fix the P^{32}.

The digestion rythm has a direct effect on the activity of the successive absorptive mucous linings : the rumen, the rennet and the duodenum.

Aufnahme und Verteilung von P^{32} im Gewebe der Ratte und beim Wiederkauer-Jungtier

Zusammenfassung

Bei der weissen Ratte geht zum Schluss der Entwicklung eine Gradiente abfallender Aktivität von der Leber über die Knochen, Milz, Blut und Muskeln zum Gehirn aus.

Die Entwicklungskurve der Aktivität der zu diesem Zeitpunkt tätigen Organe erreicht ihr Maximum in 5 Stunden nach der Einführung des Markeurs. Nach diesem Maximum tritt die Abnahme deutlich in Erscheinung (Leber, Oberschenkel, Milz, Blut), oder ist gleich Null (Muskel, Gehirn).

Diese beiden Erscheinungen treten übrigens in gleicher Weise auch beim Wiederkäuer-Jungtier, dem Lamm, auf. Hier gehören allerdings auch die Milz, eines der wichtigsten blutbildenden Organe, und das Knochensystem auch zu den P^{32} aufnehmenden Organen.

Der Verdauungsrhythmus wirkt unmittelbar hemmend auf die Aktivität der absorbierenden Schleimhäute : Pansen, Labmagen und Zwölffingerdarm.

L'histoautoradiographie.
Quelques applications en biologie cellulaire animale

E. Baeckeland
Conservateur d'histologie et d'embryologie
et M. Chèvremont
Professeur, Université de Liège (Belgique)

Une nouvelle technique d'application des radioisotopes permet l'étude précise de nombreux problèmes de biologie animale, c'est l'histoautoradiographie. Bien qu'utilisée dès 1924 par Lacassagne et Lattès se servant de polonium, ce n'est que depuis une dizaine d'années qu'elle a pris un grand essor grâce à l'emploi de radioisotopes biologiquement importants et plus particulièrement par la mise au point de précurseurs métaboliques marqués.

Principe de la méthode

Des substances marquées — introduites dans l'organisme ou dans le milieu de culture — participent au métabolisme cellulaire et s'incorporent à des structures biologiques en lieu et place des molécules normales correspondantes. La présence des radioisotopes est décelée grâce à leur action sur une émulsion photographique qui est amenée au contact des tissus. Les deux procédés les plus utilisés sont celui du « revêtement » ou « coating » (émulsion liquide G5 d'Ilford, NTB_3 de Kodak) et celui du « pelliculage » ou du « stripping film » (Stripping film Kodak AR 10, par exemple). Après développement photographique, on peut observer des grains d'argent réduit dans l'émulsion photographique en regard des sites de radioactivité. L'ensemble préparation-émulsion est coloré et monté comme une préparation histologique habituelle (fig. 1).

La précision de la méthode exige l'emploi de radioisotopes ayant un rayonnement β mou très peu énergétique (par exemple le tritium) de façon que, dans la mesure du possible, les effets de ce rayonnement soient limités à la zone de l'émulsion photographique en regard de la structure radioactive.

Toutefois, dans certaines conditions et pour certains isotopes, il est intéressant de mettre en évidence les traces d'électrons — ou éventuelle-

ment de particules α — émis à partir de certaines structures ; il s'agit alors d'histoautoradiographie de traces (track autoradiography).

*
* *

Actuellement, l'histoautoradiographie est devenue une technique importante et parfois indispensable pour l'étude de nombreux problèmes biologiques. D'autre part, les domaines d'investigation histoautoradiographique sont des plus variés comme vous pourrez vous en rendre compte par les exemples rapportés ci-dessous. Ces exemples, pris parmi de nombreux autres — car nous n'avons pas la prétention d'être complet — ont pour but de montrer d'une part les possibilités de l'histoautoradiographie, d'autre part ses limitations et ses difficultés.

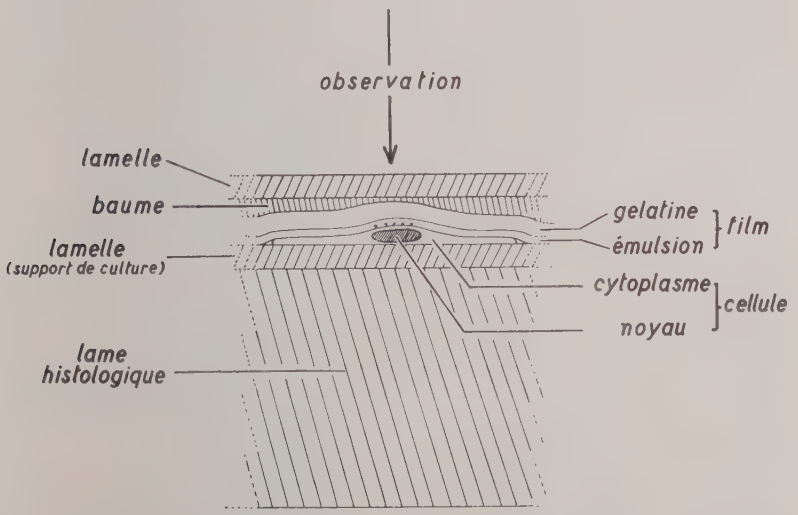


Fig. 1. — Dessin schématique d'une portion de préparation histoautoradiographique (avec culture de tissu) coupée perpendiculairement à sa surface (M. Chèvremont et J. Frederic, 1959)

Nous envisagerons successivement :

— les processus métaboliques de l'ostéogenèse.
— le métabolisme de l'iode au niveau de la thyroïde.
— la synthèse des acides désoxyribonucléiques.
— la formation de « puffs » dans les chromosomes géants.
— l'étude du renouvellement de populations cellulaires.

*
* *

Exemple I : L'ostéogenèse au niveau des sytèmes de Havers

Rappelons que les systèmes de Havers ou ostéones se forment par les dépôts successifs de lamelles disposées concentriquement autour d'un canal et qui se calcifient. Au fur et à mesure de la constitution des lamelles osseuses, le canal se rétrécit de plus en plus. Celui-ci est alors occupé en son centre par un capillaire et du tissu conjonctif, à la périphérie par une couronne d'ostéoblastes séparée des régions calcifiées par une bande de tissu à propriétés particulières : le liséré préosseux.

L'ostéogenèse proprement dite est, par ailleurs, un phénomène complexe : il comporte non seulement le dépôt de sels minéraux mais aussi la constitution préalable d'une matrice osseuse. C'est pourquoi il importe d'étudier, avec les précurseurs marqués adéquats, les différents constituants du tissu (collagène, sels calciques, mucopolysaccharides, etc). Lacroix et ses collaborateurs (1953, etc) ont largement contribué à cette étude et ont notamment mis en rapport leurs résultats histoautoradiographiques avec les données morphologiques, historadiographiques ainsi qu'avec les aspects en lumière polarisée.

Le *collagène* représente le plus important constituant de la matrice osseuse (90 % des substances organiques de l'os). Leblond et ses collaborateurs (1959) ont étudié le métabolisme de cette protéine en utilisant comme précurseur la glycine -^{3}H qu'ils injectent au chien jeune. Une heure après l'injection, on décèle de la radioactivité au niveau des ostéoblastes et du liséré préosseux (fig. 2). Tous les ostéones en voie d'élaboration présentent la même image histoautoradiographique. 6 heures après l'injection, la radioactivité appartient principalement au liséré préosseux. Après 15 jours, la technique histoautoradiographique met en évidence la présence de la glycine tritiée dans une zone annulaire centrée sur le canal de Havers mais à une certaine distance de celui-ci. Les lamelles osseuses de formation plus ancienne ou plus récente ne présentent pas de radioactivité.

Ces expériences démontrent, sans aucune ambiguïté, que, d'une part, les ostéoblastes participent directement à l'élaboration du collagène de la matrice et que, d'autre part, cette synthèse du collagène s'achève entièrement au cours des premiers stades de l'ostéogenèse.

Le ^{45}Ca a permis l'analyse du métabolisme du principal constituant de la fraction inorganique de l'os en formation.

Dans une préparation histoautoradiographique provenant d'un chien sacrifié 7 heures après l'injection de ^{45}Ca, on observe de nombreux grains d'argent développés dans l'émulsion en regard de la zone calcifiée la plus proche du liséré osseux. Une certaine radioactivité beaucoup moins intense est cependant décelable dans toute la zone calcifiée. Quelques semaines après l'injection, la zone calcifiée radioactive est

séparée de la paroi du canal de Havers par des lamelles osseuses de formation plus récente. Celles-ci, comme les lamelles plus anciennes, présentent une faible radioactivité. A la suite de ces expériences, Leblond et ses collaborateurs suggèrent que la réaction autoradiographique intense à proximité du liséré préosseux traduirait une précipitation massive du calcium sous forme de cristaux d'hydroxy-apatite (nucléation des biochimistes) ; la réaction plus faible observée au niveau du reste de la zone calcifiée serait due au radiocalcium contribuant à la croissance des cristaux. La présence de radioisotopes dans les lamelles osseuses formées après l'injection serait liée à un phénomène de redistribution impliquant des échanges métaboliques entre différentes régions de l'os déjà formé et même avec d'autres tissus.

Si nous ajoutons que la localisation du *radiophosphore* dans l'os en formation est la même que celle du radiocalcium et que du *radiosoufre* injecté à l'animal se fixe rapidement et d'une façon élective dans le

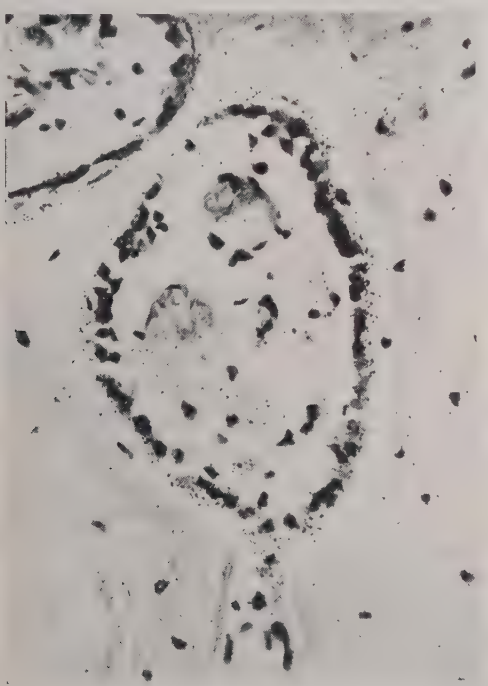


FIG. 2. — Histoautoradiographie d'une coupe d'os haversien (provenant d'un chien injecté de glycine -^{3}H et sacrifié 1 heure après l'injection). Au centre de l'image, un ostéone en formation ; les granulations noires (grains d'argent réduit) sont visibles sur les ostéoblastes et sur le liséré préosseux proche de ceux-ci. (C. P. Leblond, P. Lacroix, R. Ponlot et A. Dhem, 1959)

liséré préosseux (Vincent, 1955), nous aurons résumé très brièvement les apports remarquables de l'histoautoradiographie à la question de l'ostéogenèse.

Exemple II : Le métabolisme de l'iode au niveau de la thyroïde.

On sait que la colloïde présente à l'intérieur des follicules thyroïdiens renferme en grande quantité une protéine iodée : la thyroglobuline. Le rôle de l'épithélium thyroïdien dans la production de cette globuline a fait l'objet de nombreuses hypothèses. On pouvait, en effet, se demander s'il s'agissait de la fixation d'iode sur une protéine préexistant dans la colloïde (sous l'influence ou non d'une enzyme sécrétée par l'épithélium folliculaire) soit d'une synthèse intracellulaire de thyroglobuline suivie de sécrétion vers l'intérieur du follicule. L'histoautoradiographie, après injection à l'animal de ^{131}I et de leucine -^{3}H (comme précurseur de la portion protéique de la thyroglobuline) a permis une étude approfondie de ce problème (Leblond et Gross, 1948).

En ce qui concerne le *radioiode*, une quantité importante se fixe électivement au niveau des tissus thyroïdiens. Une heure après l'injection, on décèle surtout les radioisotopes au pôle apical de toutes les cellules des follicules thyroïdiens et dans la colloïde proche de celles-ci. Après un délai de 24 heures, la radioactivité a presque complètement disparu des cellules ; par contre, on note une incorporation de radioiode, partout dans la colloïde, de tous les follicules (fig. 3).

Comme les manipulations histologiques préalables ont éliminé l'iode inorganique qui était présent dans les tissus, on doit conclure qu'avant son passage de la cellule dans la colloïde, l'iode a été incorporé soit à la thyroglobuline, soit à un précurseur de cette dernière.

Des expériences avec de la leucine -^{3}H permettent d'envisager une sécrétion de la thyroglobuline elle-même. En effet, la leucine marquée est décelée dans les mêmes localisations que le radioiode endéans les mêmes délais. La leucine -^{3}H et le radioiode représentent donc vraisemblablement deux précurseurs d'une seule et même molécule.

Exemple III : La synthèse des acides désoxyribonucléiques (ADN)

Au cours des dernières années, la synthèse des ADN a fait l'objet de nombreux travaux. Pour sa part, l'histoautoradiographie a bénéficié, dans ce domaine, de la découverte d'un précurseur quasi spécifique des ADN : la thymidine. En effet, contrairement au ^{32}P utilisé également dans ces recherches par certains auteurs, la thymidine ne s'incorpore pratiquement pas à l'acide ribonucléique (ARN). D'autre part, si on emploie le tritium — plutôt que le radiocarbone — pour

marquer la thymidine, on parvient à localiser les sites de radioactivité avec une précision remarquable (de l'ordre de 1 μ).

Nous envisagerons ici quelques applications de la thymidine tritiée dans des recherches poursuivies par M. Chèvremont et ses collaborateurs (1959-1960) sur des cultures de tissus (fibroblastes).

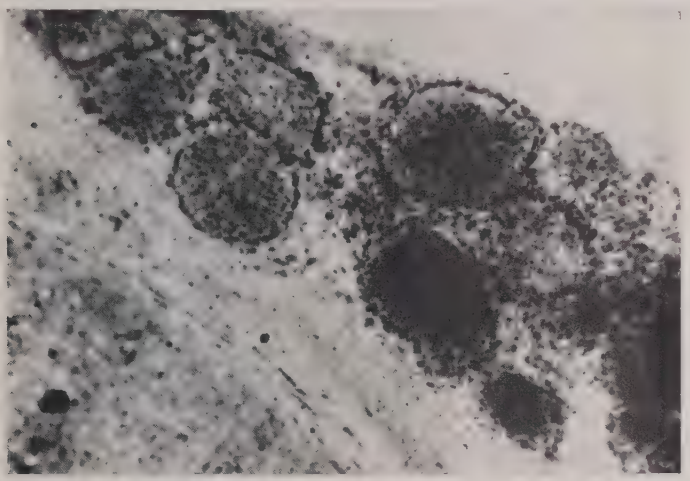


Fig. 3. —Histoautoradiographie du corps thyroïde.
Rats sacrifiés 24 heures après l'injection de radioiode.
A ce stade, marquage par le radioélément relativement peu important au niveau des cellules épithéliales des follicules mais considérable au-dessus de la colloïde
(C. P. Leblond et J. Gross, 1948)

Si la thymidine -^{3}H est ajoutée au milieu de culture dès l'explantation, par exemple, il est possible — en déterminant le pourcentage de cellules marquées — de connaître la proportion de cellules qui ont synthétisé ou sont en train de synthétiser des ADN nouveaux. Après 30 heures de culture en présence de thymidine tritiée, on décèle un marquage nucléaire au niveau de presque toutes les cellules de la zone de croissance (fig. 4). Cela signifie que la plupart des cellules ont participé pendant ce laps de temps aux processus mitotiques.

Par ailleurs, on a pu confirmer par l'histoautoradiographie la règle générale de la synthèse préprophasique d'ADN et même déterminer le délai qui sépare la synthèse d'ADN de la division cellulaire. En effet si, pour une même série de cultures, la thymidine est mise au contact des cellules pendant des temps variant de 1 à 12 heures et si toutes les cultures sont fixées au même moment, il est possible d'évaluer le pourcentage de figures mitotiques marquées (fig. 5) de telle façon que, pour les mitoses non marquées, on peut affirmer que le délai qui sépare leur

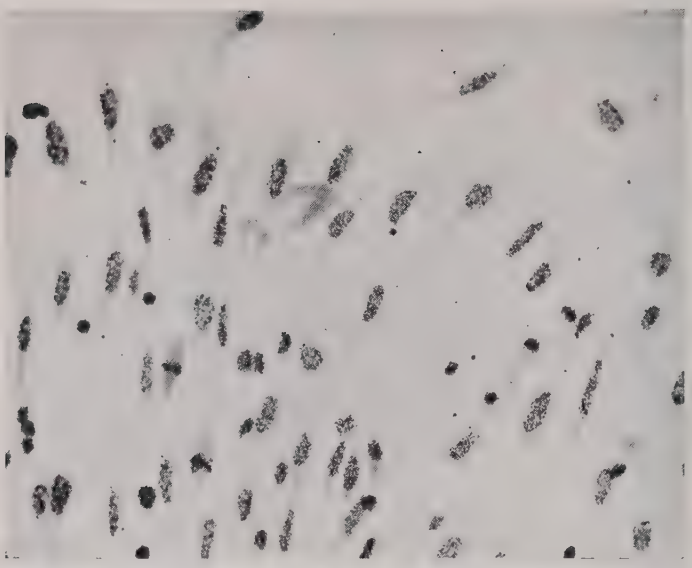


FIG. 4. — Préparation histoautoradiographique d'une culture de fibroblastes d'embryon de Poulet âgée de 30 heures et dont le milieu a été additionné de thymidine -^{3}H dès l'explantation. Noter 3 figures mitotiques.
(M. Chèvremont, S. Chèvremont-Comhaire et E. Baeckeland, 1959)

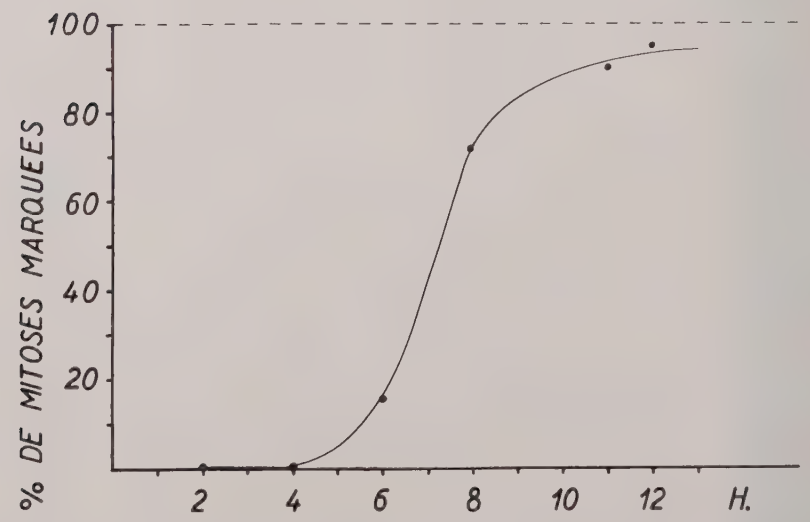


FIG. 5. — Pourcentage de figures mitotiques marquées en fonction de la durée de présence de la thymidine tritiée dans le milieu
(H. Firket, 1958)

synthèse de leur fixation est supérieur au temps de contact avec la thymidine. On peut ainsi montrer que la synthèse des ADN ne commence généralement pas plus de douze heures avant le début de la prophase, que le moment où l'incorporation est la plus active dans le plus grand nombre de cellules se situe 7 à 8 heures avant la division et enfin que l'intervalle post-synthèse a une durée de quatre à cinq heures (Firket, 1958). Ces résultats sont en parfaite concordance avec ceux obtenus par une autre technique : le dosage des ADN par cytophotométrie en lumière visible après réaction de Feulgen.

*
* *

On sait que, lors des synthèses prémitotiques, l'ADN est néoformé en quantité égale à l'ADN préexistant. Lors de l'anaphase, d'autre part, l'ADN chromosomique est réparti en quantités égales entre les cellules-filles. Étant donné que l'ADN synthétisé en présence de thymidine tritiée peut être identifié par sa radioactivité, il doit être possible de connaître le mode de distribution de l'ADN néoformé. Les observations histoautoradiographiques de Taylor, Woods et Hughes (1957) et de Firket (1958) suggèrent que chaque chromosome anaphasique contiendrait deux filaments (chromonèmes) dont l'un serait entièrement néoformé et l'autre constitué par de l'ADN plus ancien. Il faut noter que Plaut et Mazia (1956) sur la foi de recherches avec la thymidine marquée au ^{14}C, admettent une distribution inégale de l'ADN. La question n'est pas tout à fait résolue bien que son importance n'échappe à personne, si on considère le rôle génétique attribué à cette molécule.

*
* *

L'histoautoradiographie à la thymidine tritiée est aussi employée pour l'étude de différentes substances ou facteurs antimitotiques (au même titre que l'observation des cellules vivantes, la détermination de l'activité mitotique, la cytophotométrie en lumière visible après réaction de Feulgen). Elle a permis notamment la mise en évidence d'une synthèse cytoplasmique d'ADN dans certaines conditions : sous l'action de la désoxyribonucléase acide (fig. 6), du trihydroxy-N-méthylindole (Chèvremont, Chèvremont-Comhaire et Baeckeland, 1959 ; Chèvremont et Baeckeland, 1960 ; etc.).

Exemple IV : Les chromosomes géants

On observe dans certaines cellules de glandes salivaires de larves de Diptères des chromosomes géants polytènes. Ceux-ci présentent des striations ou bandes transversales qui sont riches en ADN. Grâce à la

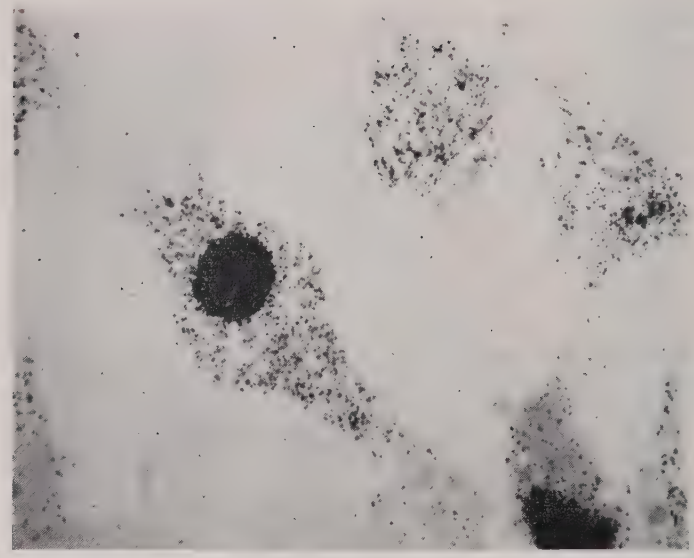


FIG. 6. — Fibroblastes traités par de la désoxyribonucléase acide et cultivés en présence de thymidine -^{3}H dès l'explantation.
Dans cette figure, deux noyaux sont marqués, les autres pas ; les cytoplasmes de toutes les cellules ont incorporé de la thymidine tritiée.
(M. Chèvremont, S. Chèvremont-Comhaire et E. Baeckeland, 1959)

méthode histoautoradiographique, FICQ et ses collaborateurs (1958) ont étudié le métabolisme des ADN au niveau de ces bandes en utilisant comme précurseur la thymidine tritiée. Les sites d'incorporation de cette molécule sont observés dans les bandes riches en ADN mais cette incorporation serait variable selon les loci envisagés et fluctuerait au cours de la vie larvaire. De plus, au niveau de certaines de ces bandes, des modifications morphologiques apparaissent brusquement : les chromosomes présentent des boursouflures (« puffs » des auteurs anglo-saxons) qui doivent être interprétées comme une manifestation fonctionnelle de ces gènes. Dans ces formations, les auteurs précités ont décelé une incorporation particulièrement importante de thymidine tritiée. Ils en concluent que l'ADN joue un rôle très actif dans ces processus. Ils signalent cependant, dans les « puffs », une fixation accrue d'adénine -^{14}C et de phénylalanine -^{14}C ; ceci montrerait que l'acide ribonucléique et les protéines interviennent également.

EXEMPLE V : LE RENOUVELLEMENT DE POPULATIONS CELLULAIRES

Il est possible de suivre l'évolution de cellules ayant incorporé de la thymidine tritiée dans leur noyau et d'étudier ainsi le renouvellement de

populations cellulaires ; des travaux ont été consacrés aux cellules sanguines de la moëlle hématopoïétique (Cronkite et ses collaborateurs, 1958), à l'épithélium de l'intestin grêle (Leblond et Messier, 1958), aux cellules sexuelles mâles (Clermont et ses collaborateurs, 1959).

En particulier dans ce dernier cas, on peut déterminer la durée du cycle de l'épithélium séminal à moins de 2 % près (pour le Rat, il serait de 12 ± 0,2 jours).

*
* *

Ces quelques exemples mettent en évidence l'importance de l'histoautoradiographie dans des problèmes très différents. L'intérêt manifesté pour cette technique est tout à fait justifié et se justifiera dans l'avenir, car elle est certainement appelée à rendre encore de grands services.

BIBLIOGRAPHIE

Chèvremont, M. et Baeckeland, E. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, 1960 (sous presse).

Chèvremont, M., Brachet, J. et Firket, H. Congrès français de Médecine, XXXII[e] session, Lausanne 1959, p. 43-56.

Chèvremont, M., Chèvremont-Comhaire, S. et Baeckekand, *Arch. Biol.*, 1959, **70**, 833-849.

Clermont, Y. Leblond, C. P. et Messier B. *Arch. Anat. micr. Morphol.expér.*, 1959, **48**bis, p. 37-55.

Cronkite, E. P., Fliedner, T. M., Bond, V. P, Rubini, J. R., Brecher, G. et Quastler, H. 2nd U.N. Internat. Conf. on Atomic Energy, Genève 1958, n° 840.

Ficq, A., Pavan, C. et Brachet, J. *Exper. Cell Res.*, 1958, suppl. **6**, 105-114.

Firket, H. *Arch. Biol.*, 1958, **69**, 1-166.

Lacroix, P. *Bull. Acad. roy. Méd. Belg.*, 1953, **18**, 489-496.

Leblond, C. P. et Gross, J. *Endocrinology*, 1948, **43**, 306-324.

Leblond, C. P., Lacroix, P. Ponlot, R. et Dhem, A. *Bull. Acad. roy. Méd. Belg.* 1959, **24**, 421-443.,

Leblond, C. P. et Messier, B. *Anat. Rec.*, 1958, **132**, 247-260.

Plaut, W. et Mazia, D. *J. biophys. biochem. Cytol.*, 1956, **2**, 573-588.

Taylor, J. H, Woods, P. S. et Hughes, W. L. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, 1957, **43**, 122.

Vincent, J. Thèse Univ. Louvain, 1955, éd. Arscia, Bruxelles.

Résumé

L'histoautoradiographie a déjà apporté une importante contribution à l'étude de nombreuses questions biologiques. Au point de vue technique, les deux procédés le plus couramment utilisés sont celui du « revêtement » ou « coating » et celui du « pelliculage » ou « stripping-film ».

Voici, parmi d'autres, quelques exemples montrant l'intérêt et la diversité de ses applications.

L'histoautoradiographie permet d'étudier :

1) La chronologie et la localisation des processus ostéogéniques grâce à des injections de ^{35}S, de ^{32}P ou de ^{45}Ca à l'animal.

2) Le «turn-over» et la localisation de l'iode aussi bien que l'incorporation d'acides aminés marqués, au niveau de la thyroïde.

3) Dans les chromosomes géants de certaines larves de Diptères, le métabolisme des acides désoxyribonucléiques (ADN), des acides ribonucléiques (ARN) et des protéines au niveau de régions bien définies.

4) Grâce à l'utilisation de ^{32}P et de thymidine (marquée au ^{14}C et mieux au ^{3}H), la durée et le moment de la synthèse des ADN préparatoire à la mitose (synthèse préprophasique), la proportion de cellulles ayant synthétisé des ADN, la durée de l'intervalle post-synthèse, le problème de la répartition entre les deux cellulles-filles des ADN nouvellement synthétisés, etc. Par ailleurs, il est possible de mettre en évidence les modifications éventuelles de la synthèse des ADN sous l'effet de différents antimitotiques (désoxyribonucléases neutre et acide, Myleran, ribonucléase, etc.)

5) L'évolution de cellules ayant incorporé de la thymidine tritiée dans leur noyau et ainsi le renouvellement de populations cellulaires (cellules sanguines dans la moëlle hématopoïétique, lignée germinale dans le testicule, épithélium de l'intestin grêle).

Histautoradiography. Some applications in animal cell biology

Summary

Histoautoradiography has already provided an important contribution towards the study of a large number of biological problems. Most widely in use are the coating and stripping-film techniques.

Some examples are given to illustrate the diversity of its applications.

Histoautoradiography makes possible the study of :

1) The chronology and the localization of osteogenic processes by injecting ^{35}S, ^{32}P and ^{45}Ca in the animal.

2) The turnover and localization of iodine and the incorporation of labelled amino acids at the thyriod level.

3) The metabolism of the desoxyribonucleic acids (DNA), the ribonucleic acids (RNA) and the proteins in well defined areas of the giant chromosomes of certain maggots.

4) The exact timing and duration of the synthesis of DNA's preparatory to mitosis (preprophasic synthesis), the determination of the proportion of cells having actively synthetised DNA's, the duration of the post-synthesis interval, the problem of the repartition of the newly synthesised DNA's between the two daughter cells, etc., by the use of ^{32}P and thymidin labelled with ^{14}C or preferably ^{3}H. Moreover it is possible to demonstrate the modifications in the DNA synthetis induced by antimitotic substances (neutral and acid desoxyribonucleases, Myleran, ribonuclease, etc.).

5) The development of the cells having incorporated tritiated thymidin in their nucleus and, following up, the rejuvenation of cell populations (blood cells in the hematopoietic marrow, germ line in the testicle, epithelium of the small intestine).

Die Histoautoradiographie. Einige Anwendungen in der Tierzellbiologie

ZUSAMMENFASSUNG

Die Histoautoradiographie hat bereits beim Studium zahlreicher biologischer Fragen einen wichtigen Beitrag geleistet. Vom technischen Standpunkt ist die « coating »-Methode und die « stripping-film »-Methode die gebräuchlichste.

Die nachfolgenden Beispiele zeigen unter anderem das Interesse und die Vielseitigkeit ihrer Anwendung.

Die Histoautoradiographie erlaubt die Untersuchung folgender Fragen :

1) Chronologie und Lokalisation der Knochenbildungsprozesse bei Tieren durch Injektion von ^{35}S, ^{32}P oder ^{45}Ca.

2) Umsatz und Lokalisation des Jods sowie die Inkorporation markierter Aminosäuren auf Thyroidniveau.

3) Stoffwechsel der Desoxyribonucleinsäuren (ADN), Ribonucleinsäuren (ARN) und Proteine in den Riesenchromosomen einiger dipteren Larven.

4) Dauer und Zeitpunkt der Synthese von ADN-Präparaten in der Mitose (Vorprophase-Synthese), Anteil der Zellen, die ADN synthetisiert haben, Dauer des Nachsynthese-Intervalls, Problem der Verteilung der neu synthetisierten ADN zwischen den beiden Tochterzellen etc. durch Anwendung von Thymidin (markiert mit ^{14}C und besser ^{3}H), Ausserdem ist es möglich, unter der Wirkung verschiedener antimitotischer Stoffe (neutrale und säure Desoxyribonucleasen, Myleran, Ribonuclease etc.) eventuelle Modifikationen der ADN-Synthese aufzudecken.

5) Evolution der Zellen nach Inkorporierung ihrer Kerne mit durch Tritium markierten Thymidin, sowie Erneuerung der Zellpopulationen (Blutzellen im blutbildenden Rückenmark, Keimlinien im Testiculum, Epithel im Dünndarm).

Exemples d'utilisation du Tritium en biologie

par W. G. Verly
Agrégé, Université de Liège (Belgique)

L'hydrogène est l'espèce atomique la plus abondante dans la matière vivante. Pour comprendre les transformations métaboliques, il est souvent indispensable de connaître le sort des atomes d'hydrogène ; on dispose pour ces études de deux isotopes rares de l'hydrogène : le deutérium et le tritium. L'avantage incontestable du tritium est lié à sa radioactivité qui lui confère, par rapport au deutérium, une sensibilité 10^{10} fois plus grande. Pour étudier l'origine biologique du groupe méthyle de l'adrénaline des surrénales du rat, nous avons dû utiliser du tritium (1) ; le deutérium ne pouvait le remplacer parce que la dilution au cours des transformations métaboliques et des manipulations chimiques était trop considérable.

Lorsque la molécule étudiée n'est pas rompue par les processus métaboliques, il importe peu de marquer l'un ou l'autre de ses atomes. On a souvent le choix entre carbone et hydrogène. L'avantage du tritium sur le C^{14} se trouve dans une demi-période plus courte (12.5 ans au lieu de 5600) liée à une activité spécifique plus élevée (environ 1000 fois). Il arrive souvent que les biologistes soient limités par un manque de sensibilité de la méthode isotopique. Pour faire une étude détaillée du métabolisme d'une substance marquée au C^{14}, on est parfois obligé d'administrer des doses de l'ordre du milligramme par kilo d'animal. Si la substance soumise à l'étude est une hormone ou une vitamine qui agit physiologiquement à la dose du microgramme par kilo, la substance marquée au C^{14} administrée perturbe considérablement les métabolismes normaux. Si le C^{14} est remplacé par le tritium, la dose peut être réduite au 1/1000 ; ainsi les conditions expérimentales deviennent bien meilleures sinon tout à fait satisfaisantes.

Le tritium émet un rayonnement β très peu pénétrant. Dans un milieu de densité unitaire, la trajectoire de l'électron de désintégration a une longueur maximum de 8 μ et une valeur moyenne de 1 μ. La faible énergie cinétique de ces électrons ($E_{max.} = 18000$ eV ; $E_{moy.} = 5690$ eV) qui rendait difficile le dosage du tritium avant l'emploi des détecteurs à scintillation liquide, présente, à d'autres points de vue, des avantages incontestables ; c'est le cas notamment lorsqu'il s'agit de localiser par autoradiographie une substance marquée dans les cellules

d'un tissu ; le tritium permet une définition de 1 μ inégalée par les autres émetteurs de rayons β.

Nous avons préparé, en 1957, de la thymidine marquée avec du tritium dans sa portion pyrimidique (2) ; la thymidine est un précurseur très spécifique de l'acide désoxyribonucléique (ADN). Firket (3) a mis des fibrolastes de poulet en culture en présence de cette thymidine tritiée ; après fixation, les cellules ont été couvertes d'une émulsion nucléaire. Après exposition et développement, les grains d'argent dans l'émulsion nucléaire se trouvent exclusivement au-dessus des noyaux des cellules au repos ou au-dessus des chromosomes dans les cellules en mitose. On sait que c'est dans le noyau et dans les chromosomes qu'est localisé l'ADN. La projection dans le plan de l'émulsion de la distance qui sépare le chromosome des grains d'argent excède rarement 0,5 μ.

L'extrême précision de ces autoradiographies montre très bien que seule la cellule qui contient du tritium est irradiée. On peut donc espérer arriver à une radiothérapie à l'échelle cellulaire : tuer des cellules au milieu d'autres cellules dont le métabolisme est différent. Cette possibilité intéresse les personnes qui s'occupent de cancérologie. La méthode a déjà permis d'isoler des mutants bactériens.

Le tritium, qui possède une masse de 3 unités, ne se comporte pas exactement comme l'hydrogène de masse 1 ; la différence observée au cours des réactions chimiques ou à l'équilibre thermodynamique constitue ce que l'on appelle l'effet isotopique. L'énergie d'activation nécessaire pour rompre la liaison C-H est de 1500 calories par mole plus élevée quand l'hydrogène possède une masse 3 au lieu de 1 ; lorsqu'on soumet à une action de déshydrogénation un mélange de C-H^3 et de C-H^1, les liaisons C-H^3 sont rompues statistiquement moins fréquemment que les liaisons C-H^1. Nous avons démontré, en 1952, l'importance considérable de cet effet isotopique *in vivo* en étudiant chez le rat l'oxydation du méthanol marqué simultanément avec du deutérium et du tritium (4).

Des rats ont reçu un mélange de L-méthionines marquées dans le groupe méthyle l'une avec du C^{14}, l'autre avec du tritium. L'adrénaline a été isolée des surrénales et dégradée de manière à séparer son groupe méthyle ; le rapport des concentrations H^3 C^{14} dans ce groupe méthyle était plus élevé que dans le groupe méthyle de la méthionine administrée (130 %) (1). Le but du travail était de savoir si le groupe méthyle de la méthionine était utilisé en entier pour la biosynthèse de l'adrénaline ou s'il était préalablement oxydé en formaldéhyde ou formiate qui aurait joué le rôle de précurseur du groupe méthyle de l'adrénaline. En l'absence de toute complication, la transméthylation doit s'accom-

pagner du maintien de la valeur du rapport H^3/C^{14}, tandis qu'une oxydation suivie de réduction doit la diminuer. Notre résultat indiquait une *augmentation* ; il s'explique le mieux par l'hypothèse d'une transméthylation compliquée par un effet isotopique. Nous croyons que cet effet isotopique se produit dans une réaction secondaire d'oxydation du groupe méthyle qui a pour résultat d'enrichir en tritium les groupes méthyle restés intacts. Des raisons nous ont conduit à penser que cette réaction d'oxydation avait pour substrat l'adrénaline elle-même.

L'oxydation du groupe méthyle de l'adrénaline conduirait vraisemblablement à la formation de N-hydroxyméthyl-noradrénaline qui devrait se décomposer en noradrénaline et formaldéhyde. Dans le but de vérifier notre hypothèse, nous avons préparé de l'adrénaline marquée avec du tritium en position β par réduction catalytique de la cétone correspondante à l'aide d'hydrogène tritié ; le produit de synthèse a été purifié par chromatographie. Quelques microgrammes de cette adrénaline tritiée ont été injectés lentement dans la veine fémorale d'un chat ; 30 secondes plus tard, le sang était recueilli par ponction cardiaque. Après addition au plasma d'adrénaline et de noradrénaline ordinaires comme entraîneurs, ces amines ont été adsorbées sur alumine, puis chromatographiées sur Amberlite XE-64. La noradrénaline était radioactive et possédait une activité totale égale à 15 % de celle de l'adrénaline isolée du plasma (5). Ceci démontre clairement que l'adrénaline est déméthylée en noradrénaline chez le chat ainsi qu'un effet isotopique nous l'avait fait supposer.

BIBLIOGRAPHIE

(1) Verly, W. G. *Arch. intern. Physiol. Biochim.*, 1956, **64**, 346-397.
(2) Verly, W. G. and Hunebelle, G. *Bull. soc. chim. Belg.*, 1957, **66**, 640.
(3) Firket, H. Recherches sur la synthèse des acides désoxyribonucléiques et la préparation à la mitose dans des cellules cultivées « in vitro ». Vaillant Carmanne, 1957.
(4) Verly, W. G., Rachele, J. R., du Vigneaud, V., Eidinoff, M. L. et Knoll, J. E. *J. Am. Chem. Soc.*, 1952, **74**, 5941.
(5) Verly, W. G., Koch, G. et Hunebelle, G. *Arch. intern. Physiol. Biochim.*, 1960, **68**, 514.

Résumé

Quand on administre à des rats de la L-méthionine marquée avec C^{14} et H^3 dans le groupe méthyle, le rapport des concentrations H^3/C^{14} est plus élevé dans le groupe méthyle de l'adrénaline isolée des surrénales que dans celui de la méthionine ingérée. Ce résultat est explicable par une réaction de transméthylation compliquée par une oxydation secondaire accompagnée d'un effet isotopique.

La vitesse d'oxydation *in vivo* du groupe méthyle est diminuée par l'introduction d'un isotope lourd de l'hydrogène dans ce groupement. Lorsqu'on a affaire à un mélange de méthyles à hydrogène léger et de méthyles à hydrogène lourd, la réaction d'oxydation a comme résultat l'enrichissement en hydrogène lourd des groupes qui n'ont pas encore réagi.

En nous servant d'adrénaline marquée avec H^3 en position β, nous avons pu démontrer l'existence d'une bioréaction de déméthylation que nous supposons oxydative.

Some examples of the use of Tritium in biology

Summary

When L-methionin, C^{14} and H^3 labelled in the methyl group, is administered to rats, the H^3/C^{14} ratio found in the methyl group of adrenalin isolated from the suprarenal glands, is higher than in the methionin ingested. This observation can be explained by a transmethylation reaction accompanied by a secondary oxidation and an isotope effect.

The oxidation rate of the methyl group *in vivo* is reduced by the incorporation of a heavy hydrogen isotope. In a mixture of normal and heavy hydrogen methyl groups, the oxidation reaction results in an increase of the heavy hydrogen concentration in the groups which have not yet reacted.

Using adrenalin labelled with H^3 in position β, the occurrence of a demethylating bioreaction, supposed to be an oxidation, has been demonstrated.

Beispiele zur Tritium-Verwendung in der Biologie

Zusammenfassung

Wenn man Ratten L-Methionin verabfolgt, das in der Methylgruppe mit C^{14} und H^3 markiert ist, so ist das Konzentrationsverhältnis H^3/C^{14} in der Methylgruppe des aus der Nebenniere isolierten Adrenalins höher als dasjenige des ingerierten Methionins. Dieses Resultat lässt sich einer Transmethylierungsreaktion erklären, die durch eine sekundäre, vom Isotopeneffekt begleitete Oxydation kompliziert wird.

Die Geschwindigkeit der Oxydation der Methylgruppen *in vivo* wird durch die Einführung eines Isotops schweren Wasserstoffes in diese Gruppierung verringert. Wenn man es mit einem Gemisch von Methylen und schwerem Wasserstoff und von Methylen und leichtem Wasserstoff zu tun hat, so besteht die Oxydationsreaktion in der Anreicherung von schwerem Wasserstoff in den Gruppen, die noch nicht reagiert haben.

Durch Verwendung von Adrenalin, das in Stellung β mit H^3 markiert war, haben wir zeigen können, dass eine Demethylierungsaktion, die wir für Oxydation halten, vorliegt.

La pénétration et la localisation des ions Ca^{++} et PO_4^{---} chez Raphanus sativus L. et Sinapis alba L.

par C. M. Bacq et G. Bernier
Assistants à l'Institut Botanique, Université de Liège (Belgique)

Introduction

Les problèmes relatifs à l'absorption des sels minéraux font l'objet d'un grand nombre de travaux. Des mises au point très complètes de la littérature à ce sujet paraissent à peu près chaque année (Epstein et Leggett, 1954 ; Epstein, 1956 ; Gauch, 1957 ; Robertson, 1958 ; Laties, 1959).

Il ressort de l'ensemble des résultats que le passage des ions du milieu extérieur vers l'intérieur d'un végétal se fait selon deux types de processus :

1. des mouvements ioniques *passifs* amenant les ions dans le « free space » des tissus par 2 mécanismes différents :

a) par simple diffusion,

b) par équilibre de Donnan entre les anions cellulaires fixes et les cations mobiles ;

2. un transport ionique *actif* consommant de l'énergie et, par conséquent, lié au métabolisme respiratoire.

D'un autre point de vue, les relations entre l'absorption minérale et le développement ont été approfondies par divers auteurs (voir à ce sujet le revue de la littérature par El Hinnawy, 1956). Les résultats sont fort variables, parfois mêmes contradictoires. La plupart des recherches, dans ce domaine, ont été effectuées soit sur des plantes carencées, soit sur des plantes pourvues d'un excédent de sels et non sur des plantes normales.

Lorsque le Professeur Bouillenne eut décidé d'introduire les techniques radioisotopiques à l'Institut Botanique de l'Université de Liège et au Centre de Recherches des Hormones Végétales de l'I.R.S.I.A., nous avons entrepris, comme recherches préliminaires, une vérification des données de la littérature ainsi que l'examen plus détaillé de certains points particuliers.

Nous avons notamment étudié la localisation précise des ions Ca^{++} et PO_4^{---} au niveau de chaque organe pris séparément, ce qui n'avait

guère été fait précédemment. De plus, nous avons suivi scrupuleusement le développement des plantes durant tout leur cycle vital (1) en n'expérimentant qu'à des stades bien définis. Ces précisions manquent généralement dans les études antérieures.

Les plantes étudiées sont *Sinapis alba* L. (la Moutarde blanche) et *Raphanus sativus* L. (le Radis). Elles sont cultivées en milieu strictement conditionné (Phytotron de l'Université de Liège et de l'I.R.S.I.A.) : Température de l'air : 20° C. et Humidité de l'air : 80 %. La durée journalière de l'éclairement est de 16 heures dans le cas de *Sinapis* (photopériode favorable à la mise à fleur) et de 8 heures dans le cas de *Raphanus* (photopériode favorable à la tubérisation). Les Radis sont cultivés en aquiculture pure, tandis que les *Sinapis* sont cultivés en aquiculture sur gravier.

Nos séries expérimentales ne comptent qu'un petit nombre d'individus, mais ceux-ci ont été sélectionnés pour leur homogénéité à partir de semis beaucoup plus vastes (voir à ce sujet, WENT, 1957).

Résultats

I. — Pénétration et localisation de l'ion PO_4^{--} chez Sinapis

I-1. Une dose de 20 μc de $^{32}PO_4$ est mise à la disposition de 20 plantes pendant 24 heures. Cette expérience, reprise à divers stades du développement, donne les résultats suivants :

TABLEAU I

Activités spécifiques de divers organes après 24 heures en coups/minute/mgr. P_2O_5

	Plantule portant 2 feuilles étalées et 2 feuilles jeunes	Préfloraison (apparition des boutons floraux)	Floraison	Fructification
Cotylédons	349	1687	79	28
Feuille 1	840	2677	163	35
Feuille 3	1089	3310	270	81
Feuille 5	—	2143	392	91
Feuille 7	—	—	480	118
Feuille 9	—	—	—	124
Fleurs	—	—	193	71
Fruits	—	—	—	131
Racines	1720	4219	1638	1142

(1) Dans le cas du radis, nous nous sommes arrêtés à la formation du tubercule.

Il ressort clairement que la vitesse de pénétration de l'ion PO_4 dépend *avant tout de l'étape physiologique* considérée.

Pour chaque organe, *quel que soit son âge propre*, c'est à la préfloraison que l'activité spécifique est maximale. Le cas des feuilles 3 et 5 est typique à cet égard. La feuille n° 3 absorbe davantage lorsqu'elle est adulte (préfloraison) que lorsqu'elle est juvénile (stade plantule), tandis que la feuille n° 5 accumule davantage lorsqu'elle est jeune (préfloraison) qu'à l'état adulte (floraison).

Notons qu'à la préfloraison commence une période de croissance accélérée qu'il convient de mettre en rapport avec cette accumulation maximale.

L'activité spécifique diminue considérablement aux étapes ultérieures : floraison et fructification.

I-2. *Secondairement*, d'autres facteurs influencent la répartition de l'ion, notamment l'âge propre des organes étudiés.

En effet, à un stade donné du développement, ce sont toujours les organes jeunes qui accumulent le plus. A cet effet, il suffit de comparer les activités spécifiques avec le numéro d'apparition des feuilles sur la tige.

I-3. La nature de l'organe conditionne aussi la vitesse d'accumulation de l'ion.

Les racines possèdent, à un stade donné du développement, une radioactivité toujours supérieure à celle de n'importe quel autre organe. Les cotylédons sont toujours les organes les moins métaboliques au point de vue du renouvellement de leur contenu en phosphore.

II. Pénétration, Localisation et Redistribution de l'ion Ca^{++} chez Raphanus

Une dose de 8,5 μ de ^{45}Ca est mise à la disposition de 25 plantes pendant 24 heures.

II-1. *Pénétration du Ca^{++} dans la plante.*

La figure I montre l'évolution de la radioactivité d'une plantule au stade 4 feuilles après 24 heures de séjour dans la solution marquée. La courbe se divise en 2 *segments de pente différente*, le 2e segment est une droite que l'on peut extrapoler à 0 heure. La courbe s'explique logiquement (comme l'on fait Epstein et Leggett, 1954) par l'existence de 2 compartiments :

— l'un -a- est rapidement en équilibre isotopique avec la solution extérieure ;

— l'autre -b- dans lequel le Ca marqué pénètre continuellement.

Connaissant l'activité spécifique de la solution marquée, on peut déduire la capacité du compartiment -a- et la vitesse de pénétration du

Ca dans le compartiment -b- : dans le cas de la fig. 1, le compartiment -a- contient 8 % du Ca total de la plante et en 24 heures, la quantité qui a pénétré dans le compartiment -b- correspond à 28 % du Ca total de la plante.

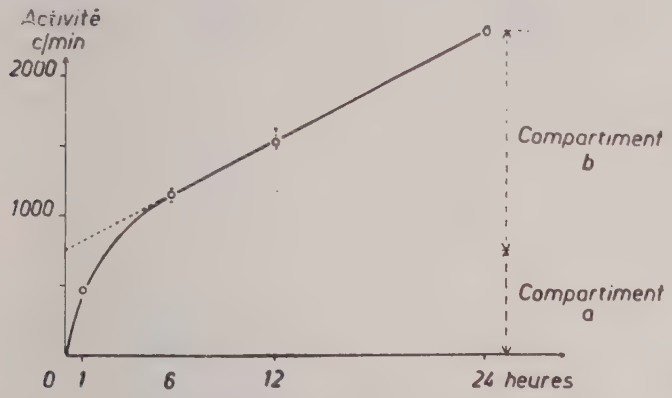


Fig. 1 — Pénétration du Ca marqué dans une plantule à 4 feuilles, au cours d'un traitement de 24 heures des racines

Caractéristiques du compartiment -a-

1. En détaillant l'évolution de l'activité pendant les premières minutes de traitement, on voit que le compartiment -a- est en équilibre avec la solution radioactive après 1 heure de contact (fig. 2) ; le demi-équilibre est déjà réalisé après 10 minutes.

2. Après 1 heure de traitement, les racines sont plongées dans la solution nutritive stable pendant 10, 30 et 60 minutes (fig. 2). On enregistre une perte d'activité très forte pendant les premières minutes : après une heure la quantité de Ca marqué qui est libérée dans le milieu correspond à la capacité du compartiment -a-. La fig. 2. est formée de 2 courbes inverses : elles expriment un même phénomène : la réalisation de l'équilibre entre les ions Ca^{++} normaux et les ions Ca^{++} marqués dans le compartiment -a-.

3. Si les plantes traitées sont plongées dans l'eau distillée, elles libèrent également du Ca marqué. Après une heure, cette quantité correspond à *la moitié* de la perte enregistrée dans la solution nutritive normale.

4. Le graphique (fig. 3) prouve que les quantités de Ca marqué libérées par les racines soit dans l'eau distillée, soit dans la solution normale sont indépendantes de la durée du traitement, c'est-à-dire de la teneur en Ca marqué du compartiment -b-. Ainsi le compartiment

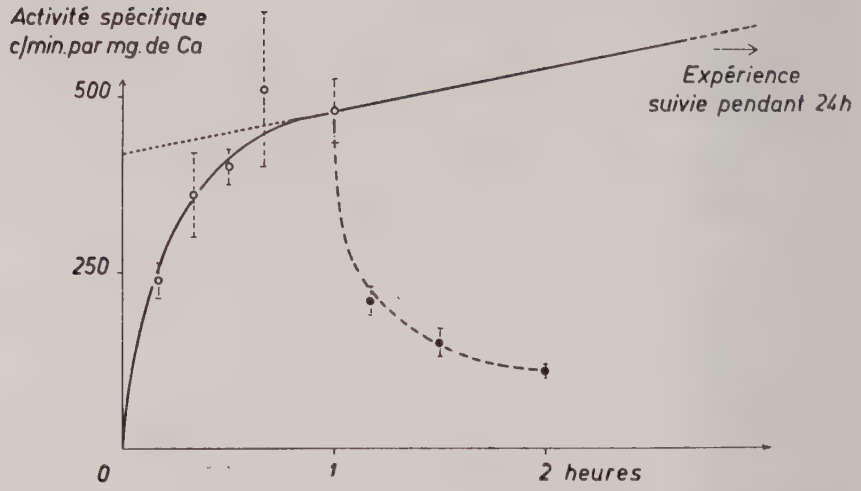


FIG. 2 — Absorption du Ca marqué dans une solution radioactive et libération de Ca marqué dans une solution normale de même composition (plante au stade de prétubérisation)

°———° racines plongées dans la solution radioactive

°- - - -° racines plongées dans la solution normale

°.....° extrapolation déterminant la capacité du compartiment -a-

-a- se divise en 2 autres d'importance égale dans notre expérience : l'un s'équilibre avec l'eau distillée, l'autre uniquement avec la solution de même concentration ionique.

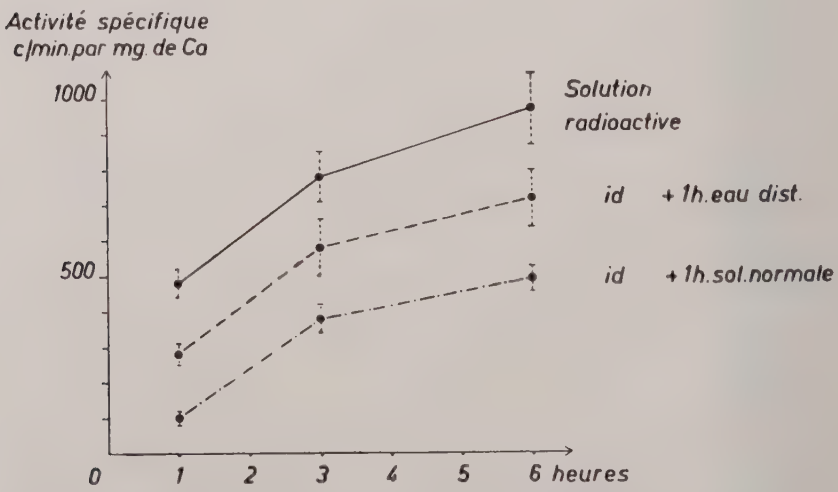


FIG. 3 — Évolution de la quantité de Ca marqué libérée dans l'eau distillée et dans la solution normale en fonction de la durée du traitement (plantes au stade de prétubérisation)

Caractéristiques du compartiment -b-

1. Le Ca marqué pénètre continuellement dans le compartiment -b- et la quantité absorbée n'est pas influencée par un retour de la solution radioactive à la solution normale ou à l'eau distillée.

2. Pour savoir si les ions, qui ont pénétré dans le compartiment -a-, passent dans -b-, on a réalisé l'expérience suivante : des plantes marquées pendant une heure sont divisées en 2 lots ; l'un replacé en solution saline non radioactive, l'autre placé d'abord en eau distillée pendant des durées diverses (trois) et ensuite pendant une heure en solution non radioactive (fig. 4).

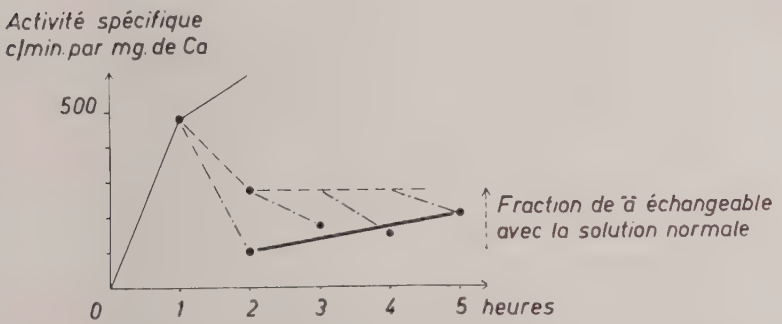


FIG. 4 — Augmentation avec le temps de séjour dans l'eau distillée de la quantité de Ca marqué non échangeable avec la solution normale (plantes au stade de prétubérisation)
o——o racines plongées dans la solution radioactive
o- - - -o racines plongées dans l'eau distillée
o- .—. —. racines plongées dans la solution normale

Dans ces conditions, les ions Ca^{++}, qui ne sont pas libérés dans l'eau distillée, constituent *la seule source de Ca de la plante.* On voit que l'activité spécifique est d'autant plus grande que le séjour en eau distillée a été prolongé. Le passage des ions Ca^{++} du compartiment -a- au compartiment -b- est donc fonction de la durée du contact avec l'eau distillée ; il est quantitativement *important*, car au cours des 3 heures que durent l'expérience, il concerne la moitié du Ca qui pénètre en -b-.

***

Il semble donc que le compartiment -a- contienne les ions qui pénètrent passivement dans la plante et que, dans le compartiment -b-, on ne trouve que les ions Ca^{++} qui ont pénétré dans les cellules par processus actif.

Deux processus dirigent la pénétration passive :

a) la diffusion : l'équilibre se fait rapidement avec le milieu que ce soit la solution saline ou l'eau distillée ;

b) l'échange d'ions : les ions Ca^{++} marqués s'équilibrent avec les cations fixés sur les anions organiques cellulaires. Ce Ca n'est pas libéré si le milieu extérieur est de l'eau distillée.

Influence du stade de développement de la plante sur la pénétration des ions Ca^{++}.

1. Proportionnellement à la quantité totale de Ca de la plante, la pénétration passive est d'autant plus grande que la plante est plus jeune ; elle représente 8 % du Ca total d'une plantule à 4 feuilles et 4 % chez une plante au stade de prétubérisation.

2. Une plantule à 4 feuilles absorbe métaboliquement en 24 h. du Ca marqué qui correspond aux 28 % de son Ca total. Au stade de prétubérisation, cette valeur est de 15 % ; lors de la tubérisation, de 6 %.

II-2. *Localisation du Ca^{++} dans la plante*

1. Les feuilles accumulent le Ca pendant toute leur vie. Cette accumulation est rapide lorsque la feuille est jeune, puis devient de moins en moins importante.

2. Le compartiment -a-, dont on a parlé ci-dessus pour la plante entière, se localise entièrement dans les racines.

3. Le Ca^{++} ne s'accumule pas dans le tubercule.

II-3. *Redistribution du Ca.*

On met en solution radioactive pendant 24 heures des plantules au stade 2 feuilles que l'on transporte ensuite en solution normale : l'activité des différents organes a été mesurée 1 jour, 8 jours et 15 jours après (fig. 5) (respectivement A, B, C).

La radioactivité totale d'une plante est la même dans les 3 séries. Il n'y a donc pas de perte de Ca dans les plantes.

La localisation première figurée par la série A est conforme aux résultats précédents. Pendant le temps qui sépare A et B il se passe deux phénomènes :

a) les organes de transport se vident de leur Ca : diminution correspondant à 8,5 % de la radioactivité totale ;

b) les cotylédons, feuilles 1 et 2 perdent une quantité de Ca qui représente 9,3 % de la radioactivité totale.

Ces 2 transports se font au profit des feuilles plus jeunes. On observe donc une redistribution faible, affectant 9,3 % du Ca absorbé en 24

heures, en faveur des feuilles qui se développent. Le transport de Ca est encore beaucoup plus faible pendant les 7 jours suivants : il existe un départ de Ca des feuilles 4 et des feuilles nouvelles (3,4 % de la radioactivité totale) vers les feuilles 2 et 3.

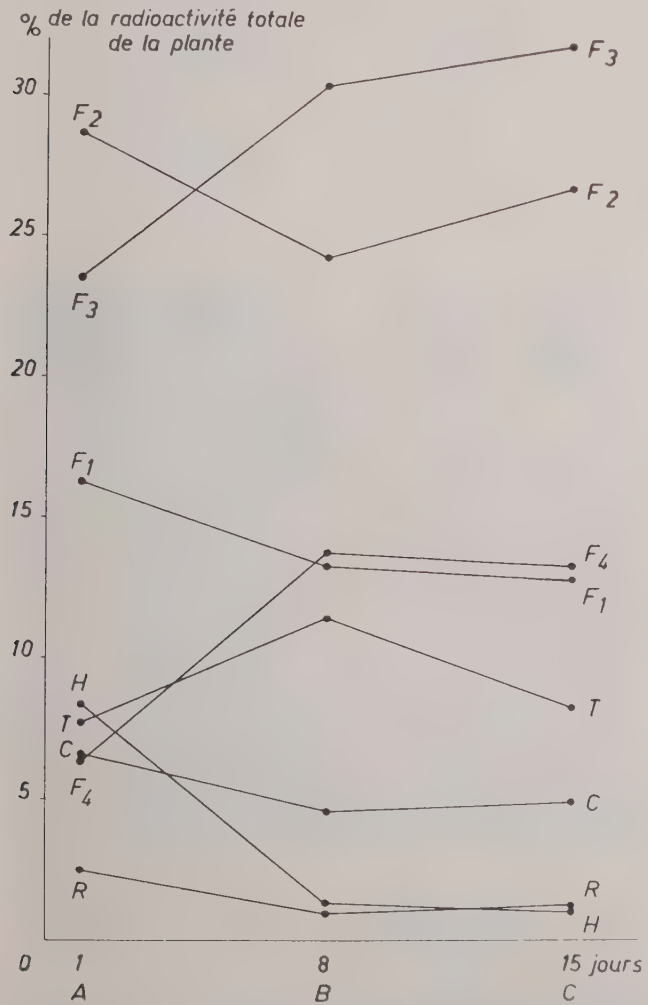


Fig. 5. — Évolution de la répartition du Ca marqué pendant les 15 jours qui suivent un traitement des racines de 24 h. (plantes portant 2 feuilles au moment du traitement).

En abscisse : les jours qui suivent le traitement.

En ordonnée : activité des différents organes en % de l'activité totale de la plante (R : racines ; H : hypocotyle ; T : tige et bourgeon ; C : cotylédons ; F : feuilles numérotées suivant leur ordre d'apparition ; F_4 : représente dans les séries B et C la feuille 4 et les feuilles qui ont apparu depuis la fin du traitement).

Les plantes de la fig. 6 se trouvent dans les conditions A et B de l'expérience : on voit très bien la faible activité des feuilles développées après la fin du traitement. Le ^{45}Ca se concentre particulièrement dans les poils épidermiques, on sait que la précipitation du $CaCO_3$ est une caractéristique des ces formations chez les Crucifères, comme le radis.

Donc dans le Ca marqué, absorbé en 24 heures et fixé dans les feuilles pendant les 24 heures qui suivent, il existe une fraction mobilisable peu importante, représentant environ 9 % de la quantité absorbée en 24 heures. Elle se distribue à partir des feuilles jeunes vers les feuilles qui apparaissent ensuite ou vers les feuilles âgées, si la croissance est ralentie.

A B

FIG. 6 — Évolution en 8 jours de la répartition du Ca marqué.
Plantules à 2 feuilles dont les racines sont traitées pendant 24 heures.
En A : 1 jour après le traitement.
En B : 8 jours après le traitement (2 nouvelles feuilles, 3 et 4, se sont développées)

III. LES VARIATIONS JOURNALIÈRES DE L'ABSORPTION DES IONS PO_4^{---} ET Ca^{++}.

Les figures 7 à 9 expriment parfaitement bien les fluctuations que subit l'absorption des ions PO_4^{---} et Ca^{++} durant un cycle de 24 heures.

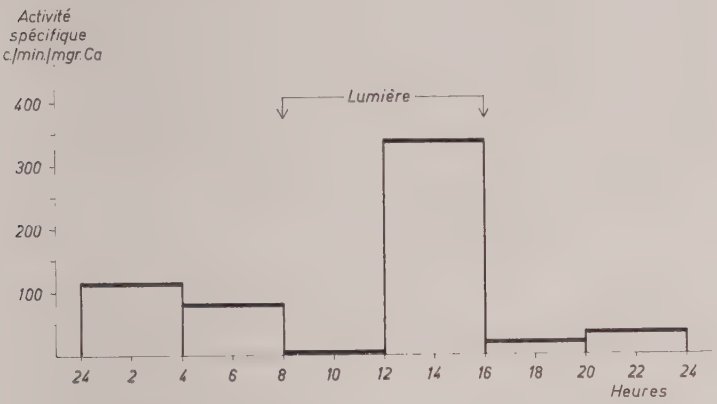


FIG. 7 — Variation journalière de l'activité spécifique du Ca chez des Radis au stade plantule à 4 feuilles

Les valeurs les plus hautes sont atteintes durant le jour tandis que des valeurs plus faibles se constatent la nuit.

Ce rythme journalier est général : nous l'avons trouvé chez *Sinapis* comme chez *Raphanus* à divers stades du développement et pour les 2 ions considérés. Seule l'absorption active est intéressée par ces variations ; la pénétration passive du Ca^{++} s'est montrée similaire la nuit et le jour (tableau 2).

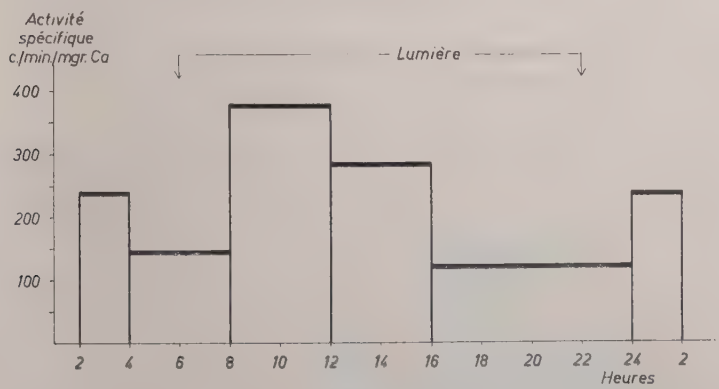


FIG. 8 — Variation journalière de l'activité spécifique du Ca chez des *Sinapis* au stade de préfloraison (apparition des boutons floraux)

Tableau II

Activités spécifiques des plantes après un traitement de 2 heures en coups/minute/mgr de Ca

	Nuit	Jour
Sinapis (préfloraison)	440	407
Raphanus (plantule)	153	178

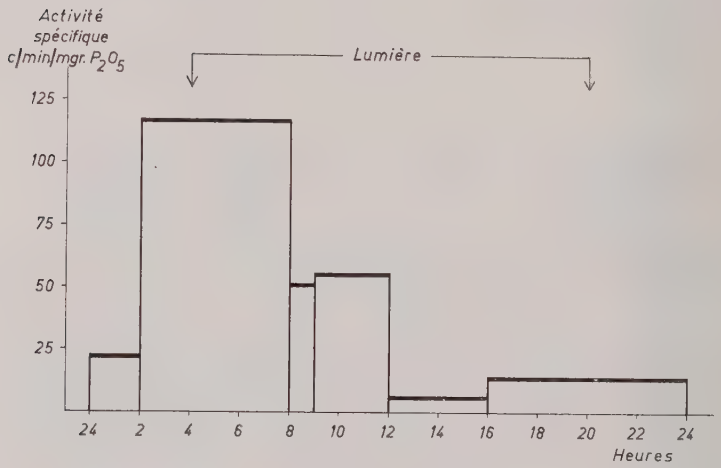


Fig. 9 — Variation journalière de l'activité spécifique du PO_4 dans la feuille n° 3 de *Sinapis* au stade plantule à 4 feuilles

Discussion et conclusions

1. Le stade de développement détermine l'intensité de l'absorption des ions PO_4^{--} et Ca^{++}. La quantité d'ion marqué pénétrant dans un végétal, par rapport à la quantité du même ion non marqué, est une mesure de *l'âge physiologique de la plante.*

A un stade donné du développement, les feuilles les plus jeunes accumulent davantage que les feuilles âgées. C'est la même constatation que celle de Biddulph (1940), Rabideau et coll. (1950) et Ririe et Toth (1952).

A chaque stade, la quantité d'ion marqué accumulée dans une feuille, par rapport à la quantité du même ion non marqué, caractérise l'*âge physiologique propre de cette feuille.*

2. L'absorption du Ca^{++} se réalise en deux phases :

— une partie des ions Ca^{++} qui ont pénétré dans les racines reste mobile et peut en sortir pour s'équilibrer avec les ions de la solution nutritive. Si la solution normale est remplacée par de l'eau distillée, l'équilibre se réalise en mobilisant une quantité d'ions Ca^{++} des racines deux fois moindre. Ces équilibres se réalisent en 1 heure, ils représentent la composante passive de la pénétration du Ca^{++} dans les racines.

— la majeure partie des ions Ca^{++} qui ont pénétré dans les racines ne peut se libérer dans le milieu extérieur ; elle constitue la partie qui a pénétré activement et qui est liée métaboliquement au contenu cellulaire.

Nos résultats s'accordent donc avec ceux de Epstein et Leggett (1954).

Nous montrons encore que le rapport pénétration passive/accumulation active diminue avec le développement du radis (jusqu'à la tubérisation). Ceci indique vraisemblablement que le développement de la surface radiculaire n'est pas proportionnel à celui de la partie aérienne.

On s'est demandé si l'absorption active dépendait de la pénétration passive ; en d'autres mots, si les phénomènes d'adsorption constituaient la première étape dans le processus de l'accumulation. Laties (1959) semble être partisan de l'indépendance des 2 phénomènes.

Nous avons cependant montré que, lorsque les ions Ca^{++} adsorbés étaient la seule source de Calcium de la plante, l'absorption active se réalisait aux dépens de ces ions adsorbés.

3. L'ion Ca^{++} fixé dans les feuilles est peu redistribué : environ 9 % du ^{45}Ca absorbé en 24 heures se redistribuent en 7 jours, 3 % seulement au cours des 7 jours qui suivent.

Biddulph (1954) défend l'idée de l'immobilité complète du Ca des feuilles. Remarquons cependant que les études de redistribution faites *uniquement* au moyen d'autoradiographies ne peuvent révéler les variations minimes que nous avons observées avec nos techniques d'analyse.

Nos résultats s'accordent mieux avec ceux de Corin, Lecrenier *et coll.* (1957), de Bukovac et Wittwer (1957) et de Lausch (1958).

4. Le renouvellement des ions PO_i^{---} et Ca^{++} suit un rythme journalier : il atteint toujours son intensité maximale durant le jour. Ces variations journalières se retrouvent dans la plante entière et dans chacun de ses organes pris séparément ainsi qu'à tous les stades du développement considérés.

Hanson et Biddulph (1953) avaient déjà montré, chez le Haricot, que l'absorption et la translocation du phosphore suivaient un rythme journalier.

5. L'ion Ca^{++} ne s'accumule pas sélectivement dans le tubercule du radis. Ce résultat présente un certain intérêt car on peut considérer que le ^{90}Sr, élément principalement disséminé lors des explosions atomiques, se localise comme le Ca. En effet, ces deux ions sont très voisins d'un point de vue physiologique.

BIBLIOGRAPHIE

1. Biddulph, O. Absorption and Movement of Radiophosphorus in Bean Seedlings. *Plant Physiol.*, 15, 131-136 (1940).
2. Biddulph, O. The distribution of P, Ca, S, Fe in the bean plants as revealed by use of radioactive isotopes : Analyse des plantes et problèmes des engrais minéraux. Paris, I.R.H.O., 1-10 (1954.)
3. Bukovac, J. M. et Wittwer, S. H. Absorption and mobility of foliar applied nutrients, *Plant. Physiol.*, 32, 428-435 (1957).
4. Corin, Lecrenier et Coll. Contribution à l'étude de la nutrition minérale des arbres fruitiers au moyen d'isotopes radioactifs. Unesco/ns/ric/180 (1957).
5. El Hinnawy, E. I. Some aspects of mineral nutrition and flowering. *Mededelingen van de Landbouwhogeschool te Wageningen/Nederland*, 56(9), 1-51, (1956).
5. Epstein, E. et Leggett, J. E. The absorption of alkaline earth cations by barley roots. Kinetics and mechanism. *Amer. Journ. Bot.*, 41, 10, 785-791 (1954).
7. Epstein, E. Mineral nutrition of plants : mecanisms of uptake and transport. *Ann. Rev. of Pl. Physiol.*, 7, 1-25 (1956).
8. Gauch, H. G. Mineral nutrition of plants. *Ann. Rev. of Pl. Physiol.*, 8, 31-64 (1957).
9. Hanson, J. B. et Biddulph, O. The diurnal variation in the translocation of minerals across bean roots, *Plant Physiol.*, 28, 356-370 (1953).
10. Laties, G. G. Active transport of salt into plant tissue. *Ann. Rev. of pl. Physiol.*, 10, 87-112 (1959).
11. Lausch, E. Untersuchungen über Calcium Rüchtransport in höheren Pflanzen. *Flora*, 145, 542-587 (1958).
12. Rabideau, G. S., Whaley, W. G., et Heimsch, C. The absorption and distribution of radioactive phosphorus in two Maize inbreds and their hybrid. *Amer. Journ. Bot.*, 37, 93-100 (1950).
13. Ririe, D. et Toth, S. Plant studies with radioactive Ca. *Soil. Sci.*, 73, 1-10 (1952).
14. Robertson, R. N. The uptake of minerals. *Encyclop. Pl. Physiol.*, Berlin, 4, 243-279 (1958).
15. Went F. W. The experimental control of plant growth. Chronica Botanica Co. (1957).

Résumé

L'étude de l'absorption des ions Ca^{++} et PO_4^{---}, à l'aide du Ca^{45} et du P^{32}, réalisée sur *Raphanus sativus* L. et *Sinapis alba* L. cultivés en aquiculture et dans le milieu strictement conditionné du phytotron de Liége a permis d'arriver aux conclusions suivantes :

1. Le stade de développement du végétal détermine l'intensité de l'absorption des 2 ions. Réciproquement, la quantité d'ion marqué absorbé par rapport à la quantité du même ion non marqué est une mesure de l'âge physiologique de la plante.

2. A tous les stades du développement, le renouvellement des ions Ca^{++} et PO_4^{---} suit un rythme journalier atteignant son intensité maximale le jour.

3. L'absorption du Ca^{++} se réalise en 2 phases : une phase passive et une phase active liée au métabolisme. La phase passive se réalise par 2 processus d'importance égale : par simple diffusion et par équilibre de Donnan. Lorsque les ions Ca^{++} adsorbés sont l'unique source en Ca de la plante, l'absorption active se réalise à leurs dépens.

4. L'ion Ca^{++} fixé dans les feuilles de *Raphanus* se redistribue pendant une semaine à raison de 9 % de la quantité absorbée en 24 heures.

Penetration and localization of Ca^{++} and Po_1^{---} ions in *Raphanus sativus* L. and *Sinapis alba* L.

Summary

The following conclusions are inferred from the study of absorption of Ca^{++} and PO_4^{---} in *Raphanus sativus* L. and *Sinapis alba* L. grown on water under the strictly controlled conditions of the Liège phytotron :

1. The stage of development of the plant determines the intenseness of absorption of the 2 ions. Reciprocally, the quantity of marked ion absorbed, with reference to the quantity of the same non-marked ion, measures the physiological age of the plant.

2. At all stages of the development, the renewing of the Ca^{++} and PO_4^{---} ions follows a daily turn reaching its highest intenseness in daylight.

3. The absorption of Ca^{++} takes place in 2 phases : a passive phase, and an active phase in connection with metabolism. The passive phase takes place under 2 processes of equal importance : by simple diffusion and by Donnan equilibrium. When the absorbed Ca^{++} ions are the only source of Ca for the plant, active absorption takes place at their expense.

4. The Ca^{++} ion fixed in the leaves of Raphanus is redistributed during one week at the rate of 9 per cent of the quantity absorbed in 24 hours.

Das Eindringen und das Festsetzen von Ca^{++} und PO_4^{---} Ionen bei *Raphanus sativus* L. und *Sinapis alba* L.

ZUSAMMENFASSUNG

Das Studium der Aufnahme von Ca^{++} und PO_4^{---} Ionen an Hand von Ca^{45} und P^{32} bei *Raphanus sativus* L. et *Sinapis alba* L., die in Aquakultur und unter strikten Bedingungen des Phytotrons in Lüttich angebaut wurden, hat es ermöglicht, folgende Schlussfolgerungen zu ziehen :

1. Das Entwicklungsstadium der Pflanze bestimmt die Aufnahmeintensität der beiden Ionen. Und umgekehrt ist die Mengenaufnahme des gezeichneten Ions im Vergleich zur Menge des gleichen nicht gezeichneten Ions ein Masstab des physiologischen Alters der Pflanze.

2. In allen Entwicklungsstadien verfolgt die Erneuerung der Ca^{++} und PO_4^{---} Ionen einen täglichen Rythmus, der seine maximale Intensität während des Tagesverlaufs erreicht.

3. Die Ca^{++} Aufnahme geschieht in zwei Phasen : eine passive und eine aktive Phase, die an den Metabolismus gebunden sind. Die passive Phase geht in zwei Verfahren von gleicher Wichtigkeit vor sich : durch einfache Diffusion und durch das Gleichgewicht von Donnan.

Falls die adsobierten Ca^{++} Ionen die einzige Ca Quelle der Pflanze sind, so geschieht die aktive Aufnahme auf Kosten dieser Ionen.

4. Das Ca^{++} Ion, das in den Blättern von Raphanus fixiert ist, verteilt sich wieder während einer Woche zu 9 % der in 24 Stunden aufgenommenen Menge.

Étude de la nutrition par la feuille à l'aide d'isotopes radioactifs

par A. van den Hende, L. Baert et W. Avermaete
Rijkslandbouwhogeschool, Gand (Belgique) (*)

L'application de sels nutritifs par la feuille est, au cours de ces dernières années, entrée dans la grande pratique agricole et surtout horticole et viticole.

Cette technique présente en effet de grands avantages par ses possibilités nouvelles. Deux exemples, choisis dans des domaines très différents, le démontrent suffisamment :

1) l'absorption de certains éléments mineurs (par exemple le manganèse), indispensables à la croissance, requiert à la fois une concentration minime et surtout un pH compris entre des limites assez étroites ;

2) l'alimentation de la plante en éléments majeurs (tels le phosphore) peut être freinée sur certains sols par des processus chimiques ou physico-chimiques, fixant ou faisant rétrograder les sels accessibles, même ceux appliqués sous forme d'engrais solubles.

Dans les deux cas mentionnés, l'épandage de solutions contenant un sel (ou complexe) de l'élément, permettra de procurer à la plante l'élément déficient, tout en évitant le déroulement des processus chimiques ou physico-chimiques indésirables dans le sol ; mais en plus l'incorporation de ces éléments s'effectuera souvent bien plus rapidement dans les tissus après application sur la feuille. La même technique est indiquée pour des végétaux récemment transplantés ou dont les racines ne disposent, par suite des conditions de culture, que d'un espace insuffisant, tout comme pour les plantes se développant sur le sol recouvert d'herbes.

L'alimentation par la feuille a fait, depuis la seconde guerre mondiale, l'objet d'études très nombreuses. Leurs résultats rendent des services incontestables dans la lutte contre les carences en éléments mineurs, qu'il s'agisse du zinc (31) (32) (33), du cuivre (8) (15) (16), du man-

(*) Recherches subsidiées par l'Institut pour l'Encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture (I.R.S.I.A.).

ganèse (5) (34), du fer (41), du bore (2) et même du molybdène (40) (1).

Concernant l'absorption des éléments majeurs, celle de l'azote sous forme d'urée (7) (10) (13), a retenu principalement l'attention. Il est cependant intéressant de mentionner que dès le début de ce siècle, Hiltner (20) (21) avait démontré que certaines plantes possèdent la propriété de pourvoir à la nutrition en potassium par l'absorption de KCl par la feuille ; le même auteur, en collaboration avec Kronberger (22), indique d'ailleurs, quelques années plus tard, que l'azote et le phosphore peuvent également être absorbés par la même voie.

Il ressort de cette énumération qu'une étude fondamentale du mécanisme de l'absorption par la feuille revêt un grand intérêt. L'usage des isotopes radioactifs fournit le moyen de suivre, de façon certaine et simple, le comportement de l'élément étudié ; il est donc tout indiqué d'avoir recours aux sels marqués pour effectuer pareille étude.

En nous engageant dans ces recherches, nous avons certes été frappés par les grandes possibilités de l'autoradiographie tout au moins pour des déterminations semi-quantitatives ; déjà lors de la première Conférence Internationale sur l'Utilisation de l'Énergie Atomique à des Fins Pacifiques tenue à Genève en Août 1955, Stewart et Leonard (41) démontrent de façon nette que l'absorption de chélate de fer est bien plus rapide et aisée que celle de sulfate ferreux, dans la lutte contre la chlorose.

Cette opinion a été confirmée par les résultats obtenus par l'emploi d'insecticides marqués possédant ou non des propriétés systémiques (1) (3) (17) ; notre propre expérience concernant l'absorption de soufre marqué par des plantes, alimentées par les racines sur des sols pauvres ou riches en sulfates échangeables, nous a portés à attacher à l'autoradiographie une valeur considérable pour l'étude envisagée.

Il nous faut cependant formuler une réserve importante : l'autoradiographie se prête très bien à l'étude des combinaisons des émetteurs bêta, mais très mal à celle des émetteurs gamma. La durée de contact du matériel végétal et du film dépendra de l'énergie de l'émission bêta d'un isotope ; la durée atteint des périodes considérables pour les émetteurs uniquement gamma (cas du ^{54}Mn).

Toujours est-il que l'autoradiographie convient pour l'étude de l'alimentation en phosphore, grâce à l'usage de phosphates marqués au ^{32}P.

(1) Les références mentionnées ne le sont qu'à titre d'exemples particulièrement spectaculaires.

Mise au point de la technique expérimentale

Indépendamment de la mise au point des conditions de culture des plantes, deux points exigeaient une étude préalable :

a) la quantité de phosphate marqué à appliquer ;

b) le mode d'application susceptible de fournir des données se prêtant à l'interprétation la plus sûre des résultats.

A) Étude de la quantité de phosphate marqué a appliquer

Les conditions de culture de *Phaseolus vulgaris* ont été choisies de la façon suivante : en vase de Mitcherlich contenant toujours un même poids de sol, en serre, semences placées à 2 cm sous la surface, addition éventuelle d'une solution diluée contenant un nitrate, un sel potassique et dans certains cas de KH_2PO_4.

Lors de l'application du sel marqué ($KH_2\ ^{32}PO_4$) par la feuille, il faut cependant tenir compte du danger d'occasionner la plasmolyse et aussi d'une répercussion physiologique de la radiation, si la quantité de sel radioactif est trop élevée ; la concentration augmente d'ailleurs lors de l'évaporation de la solution sur la feuille ; par contre cette quantité doit être suffisante pour être encore perceptible, même si l'absorption est minime et la surface de tissus examinée restreinte.

L'immersion de fines coupes de tissus de *Phaseolus* dans des solutions de molarité croissante, nous a permis de conclure qu'une concentration 0,25 M ne cause pas de plasmolyse ; le volume de solution appliqué comportant généralement 0,1 cm^3 par feuille, nous avons utilisé des solutions 0,5 % en KH_2PO_4 (soit moins de 0,05 M), laissant une large marge de sécurité, lors de l'évaporation sur la feuille.

Tenant compte des autres conditions expérimentales à respecter, nous avons réalisé les circonstances les plus favorables par application de 1 micro-curie par plante, c'est-à-dire de 0,1 cm^3 d'une solution ayant une activité de 10 micro-curies par cm^3.

B) Étude du meilleur mode d'application de la solution sur la feuille

Le mode d'application méritant la préférence pour notre étude doit satisfaire à plusieurs critères :

1) fournir des résultats reproductibles ;

2) permettre l'absorption d'une quantité suffisante de traceurs pour en rendre possible la détection tout en évitant l'usage de doses élevées au point d'occasionner des effets physiologiques secondaires dus aux radiations ;

3) ne pas provoquer de contamination ni des autres parties des végétaux, ni du sol, ni des locaux ou emplacements.

Plusieurs méthodes ont été décrites ; nous les passerons rapidement en revue ; mentionnons ici que, contrairement aux conceptions généralement admises, certains auteurs (7) (12) affirment que l'absorption peut s'opérer, même après évaporation complète de la solution.

Selon une première méthode, on épand à l'aide d'une micropipette une ou plusieurs gouttelettes sur la feuille ; les gouttelettes seront aussi fines que possible afin d'empêcher qu'elles ne découlent des feuilles.

Ce procédé présente un gros inconvénient : on n'humecte qu'une très petite surface ce qui exige de fortes concentrations de traceur pour rendre perceptible la détection ultérieure.

Plusieurs variantes à cette première méthode ont été expérimentées :

a) L'épandage à l'aide d'une micro-pipette d'un volume de solution s'étalant sur une grande partie ou même sur la totalité de la feuille, qui permet d'obvier à l'inconvénient mentionné plus haut. Cette variante s'est cependant avérée inapplicable pour nos essais ; la surface de contact est en effet très variable et le danger d'écoulement d'une partie de la solution radioactive sur d'autres organes de la plante devient trop grand ; dans ce dernier cas l'essai est perdu. L'autoradiographie I a été obtenue pour une plante soumise à cette méthode.

b) Cook et Boynton (7) badigeonnent les feuilles à l'aide d'un pinceau trempé dans la solution radioactive ; cette variante ne nous a pas donné satisfaction vu l'impossibilité de connaître le volume de solution appliqué.

c) L'utilisation d'un aérosol de la solution se rapproche des méthodes courantes en pratique agricole ; Boguslavski et Vogel (4) y ont eu recours. Les feuilles sont traitées de façon très homogène, mais l'aérosol atteint d'autres feuilles ; en plus le contrôle du volume utile est quasi impossible.

Un second type de méthode consiste dans l'immersion de la feuille dans la solution ; en suivant ce procédé, la concentration en sel radioactif n'augmente pas au cours du traitement ; deux désavantages majeurs s'opposent pour nos essais à cette méthode ; le danger subsiste qu'après l'immersion, des gouttes ne coulent sur d'autres organes de la plante et il n'est pas question de se rendre compte du volume absorbé.

Nous avons obtenu les résultats les meilleurs en utilisant un troisième type de méthode, notamment par l'intermédiaire des « lens tissue papers ».

Le mode opératoire le plus favorable nous paraît résider dans l'utilisation des « Lens tissue papers » d'une surface de 10 cm^2 sur laquelle

0,1 cm³ de solution est prudemment déposée (voir photos 1 et 2). Les « Lens tissue papers » adhèrent facilement à la surface des feuilles de *Phaseolus* tandis que la solution — à laquelle 1 % du tensio-actif X 103 est ajouté — humecte entièrement les papiers sans déborder.

Cette méthode possède donc le grand avantage d'assurer à la fois une grande reproductibilité des résultats et grâce à la surface de contact relativement grande de permettre la détection de l'élément radioactif sans élever la radioactivité de la solution.

Il a cependant paru que l'absorption par l'intermédiaire de cette méthode reste notablement inférieure à celle obtenue par application immédiate sur la feuille. Nous avons cependant pu tourner cette difficulté en humectant à nouveau à l'aide d'eau distillée le « Lens tissue paper », après absorption de la solution qui y avait été préalablement déposée.

La comparaison de 8 modes d'application en ce qui concerne le coefficient et le degré d'utilisation, et la déviation standard du résultat moyen nous a portés à adopter la technique des « Lens tissue papers » en prévoyant d'humecter 10 fois le papier après son traitement par la solution radioactive (1).

Avant de discuter les résultats obtenus il nous faut mentionner que d'autres auteurs dont Roberts *et al.* (30) (36), Lambertz (25) et surtout Cook et Boynton (7) ont examiné si la partie supérieure ou inférieure de la plante convenait le mieux pour l'absorption ; la conclusion générale qui se dégage de cette étude peut se résumer comme suit : l'absorption plus ou moins intense, soit par la partie supérieure, soit par la partie inférieure, peut dépendre de la nature du végétal, bien que l'absorption la plus forte de la partie inférieure de la feuille du pommier devient avec le temps égale à celle de la partie supérieure. En tout état de cause, étant donné le comportement parfois très spécifique des espèces végétales, il nous a fallu adopter au cours de tous les essais une même technique d'application ; nous l'avons toujours réalisée sur la surface supérieure des feuilles de *Phaseolus*.

Discussion des résultats

1) Influence de l'application des « Lens Tissue Papers » sur la feuille

Des « Lens tissue papers » de 1 cm² de surface ont été placés à plusieurs endroits de la feuille (voir figure 1) et traités parallèlement de la même façon. L'absorption la plus accentuée a été retrouvée dans les conditions expérimentales, lors de la disposition de ces papiers à la pointe des feuilles ; il apparaît cependant de l'analyse mathématique des résultats (les essais ayant été effectués à trois reprises) qu'aucune différence nettement significative n'a pu être observée ; pour cette raison nous avons adopté un mode de disposition des papiers toujours

(1) On entend par degré d'utilisation le rapport $\frac{P_2O_5 \text{ absorbé}}{P_2O_5 \text{ appliqué}} \times 100$, et par coefficient d'utilisation : $\frac{\text{l'activité spécifique de la plante}}{\text{l'activité spécifique du sel}} \times 100$

PHOTO 1

PHOTO 2

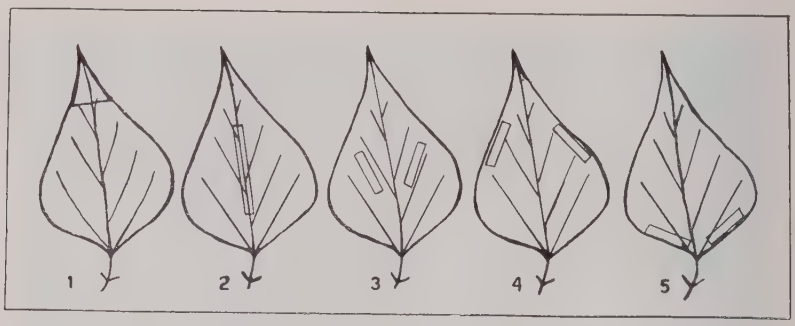


Fig. 1. — Dispositions étudiées des « Lens tissue papers ».

identique, et se prêtant le mieux à la réalisation pratique (voir photos 1 et 2).

2) Influence de la concentration de la solution appliquée

Sosa-Bourdouil et Lecat (38) (39) mentionnent que l'absorption de phosphate de sodium par la feuille de *Primula sinensis* et de tomates, est proportionnelle à la concentration jusqu'à 0,5 %. Vu l'importance de ce point nous avons repris les essais sur grande échelle à l'aide de KH_2PO_4 marqué, notamment à 0,25 %, 0,50 %, 0,75 %, 1,00 %, 1,25 %, 1,50 %, 2,00 %, 2,50 %, 3,00 %, et 4,00 % ; ces essais ont été effectués à quatre répétitions sur *Phaseolus*.

Dans les conditions expérimentales le *coefficient d'utilisation* a augmenté graduellement lorsque la concentration s'élève ; mais si le *degré d'utilisation* croît pour les faibles concentrations (inférieures à 0,75 % KH_2PO_4) de façon linéaire avec celle-ci, il passe par un maximum (entre 0,75 et 1,25 %) pour diminuer et atteindre une valeur approximativement constante (voir diag. 1).

3. Influence du pH

Un phosphate tel le KH_2PO_4, se dissocie totalement en solution diluée libérant les ions $H_2PO_4^-$; ceux-ci peuvent d'après la théorie de Brönstedt se comporter soit :

a) comme une base (selon le schéma) :

$$H_2PO_4^- + H^+ \rightleftharpoons H_3PO_4 \qquad (1)$$

b) comme un acide (selon les formules de dissociation) :

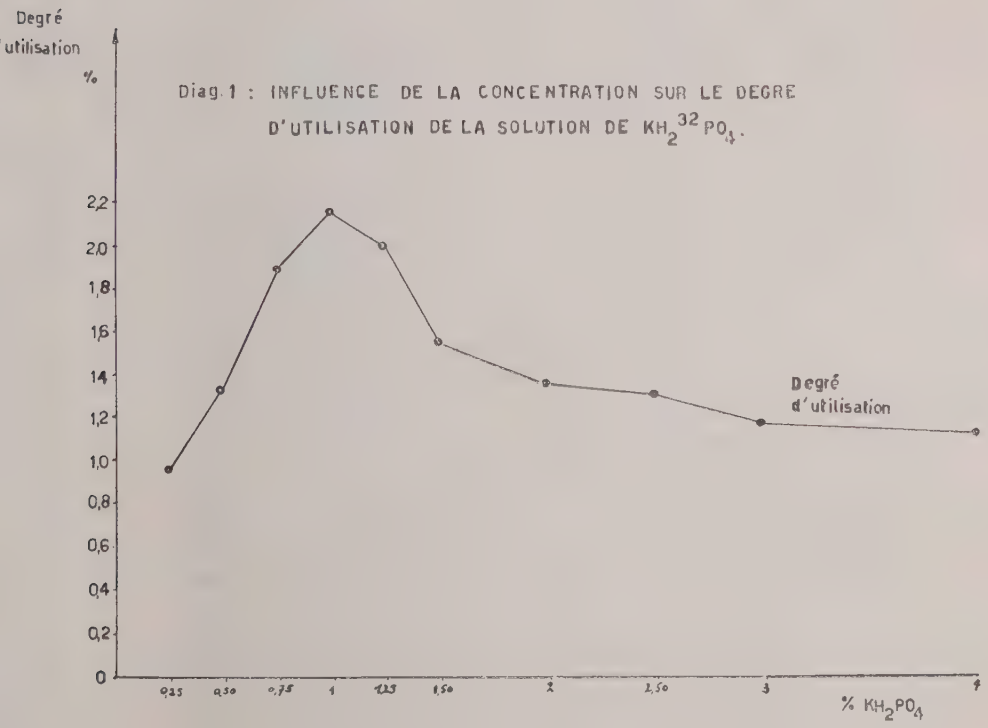
$$H_2PO_4^- \rightleftharpoons HPO_4^{--} + H^+ \qquad (2)$$

ou

$$H_2PO_4^- \rightleftharpoons PO_4^{---} + H^+ \qquad (3)$$

On remarquera immédiatement que la concentration en ions d'hydrogène (donc le pH) déterminera la nature des ions ou molécules, ou tout au moins la proportion selon laquelle les ions ou molécules seront présents.

L'acide phosphorique se comportant non comme un acide monovalent fort, mais comme un acide trivalent faible, les schémas (1) et (3) ne joueront qu'un rôle secondaire.



Cook et Boynton (7), Swanson et Whitney (43), ainsi que Tukey et coll (47), s'accordent à reconnaître qu'un pH bas favorise l'absorption ; selon le dernier auteur elle serait la plus forte pour des pH compris entre 2 et 3. Vu le danger de brûler les feuilles lors de l'application de solutions trop acides, nous avons repris les essais, en utilisant des solutions de KOH et de H_3PO_4 marquées à des pH resp. de : 2,2, 2,7, 3,2, 5,3, 6,7, 7,3 et 8,5.

Tous les essais étant effectués à trois répétitions moyennant les mêmes conditions expérimentales, nous avons retrouvé le meilleur *degré et coefficient d'utilisation* au pH 2,2, sans occasionner de brûlures. L'absorption devient très défectueuse à pH élevé (voir diag. 2).

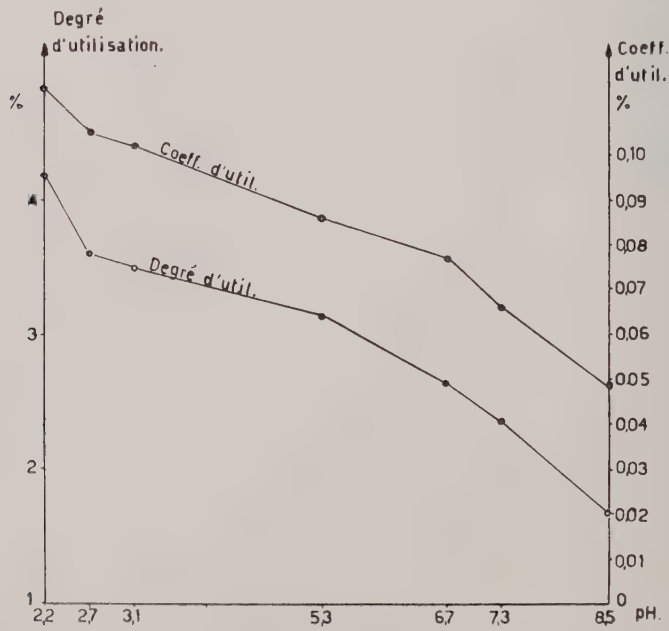
4. Influence de la nature du sel soluble

Pareille étude implique la prise en considération de deux aspects :

a) *le pH de solution* de sel déterminé à la fois par le degré de substitution de sel (primaire, secondaire ou tertiaire) et par le caractère basique plus ou moins prononcé de l'hydroxyde saturé (le KH_2PO_4 par exemple est moins acide que le $NH_4H_2PO_4$) ;

b) *une propriété spécifique éventuelle d'un ion.*

Plusieurs auteurs ont examiné ce problème à l'aide d'acide phosphorique et de phosphates d'ammonium, de Na, K, Ca et Mg marqués (11) (12) (14) (26) (47) pour différentes plantes dont le *Phaseolus*.



Diag.2 : INFLUENCE DU pH SUR LE DEGRE ET LE COEFFICIENT D'UTILISATION DE LA SOLUTION DE $KH_2{}^{32}PO_4$.

Des données de la littérature et de nos propres essais, il ressort que le pH de la solution (donc la forme ionique ou moléculaire) joue le rôle essentiel ; ainsi l'acide phosphorique est le mieux absorbé.

La propriété spécifique des ions paraît peu prononcée à pH égal et dépend de l'espèce végétale.

5. Influence de l'addition a la solution de mouillants ou d'autres substances

L'addition de tensio-actifs a uniquement pour but la diminution de la tension superficielle, ce qui permet à la solution de mieux s'étaler et de favoriser la formation d'un film au lieu de gouttelettes ; l'épandage devenant plus homogène, le danger de brûlures des feuilles diminue parallèlement.

De nombreuses recherches ont déjà été effectuées à l'aide de détergents, notamment par Tukey *et coll.* (47), Fisher *et* Walker (14), Cook et Boynton (7), Swanson et Whitney (43), mais ne permettent pas de dégager une loi valable pour tous les cas.

Il faut noter ici que des études poussées de Yatazawa (50)(51) démontrent que l'addition de sucres favorise l'absorption de phosphate primaire de sodium par des feuilles de froment conservées dans l'obscurité. Selon Fisher et Walker (14) le glycérol aurait une influence similaire sur l'absorption de phosphates (mais non pas de sels de magnésium) par les feuilles de pommier. Par contre, dans d'autres conditions expérimentales, Sosa-Bourdouil et Lecat (39) pour l'acide phosphorique, tout comme Tukey *et coll.* (47), remarquent un effet contraire ; l'intensité lumineuse jouerait un grand rôle. On comprendra donc toute l'importance, tant pratique que scientifique, que revêt l'étude de l'addition de substances apparemment d'influence minime ou nulle, même sur l'apparition éventuelle de phénomènes de plasmolyse (7)

Vu l'importance du problème, nous avons repris l'étude sur *Phaseolus* (4 répétitions, 12 plantes par vase de végétation) ; au cours de cet essai, nous avons essayé d'étendre les solutions à l'aide d'une baguette de la façon la plus homogène possible sur les feuilles.

Les résultats sont renseignés au tableau I ; ils démontrent suffisamment que de très nombreux facteurs interviennent tant du point de vue de la disposition des cellules de la feuille, des propriétés caractéristiques de leur surface et des facteurs physico-chimiques propres à la solution employée.

On remarquera donc que le mouillant X-103 favorise le plus l'absorption du phosphate, tandis que l'Ultra-Wet et le Tween-21 procurent des résultats très favorables, bien que le « t-test » ne permette pas de retrouver une différence significative entre l'influence de ces 2 derniers mouillants. L'atlox, le glycérol, le sucrose et la solution témoin fournissent des résultats nettement inférieurs par suite de la formation de très fines gouttelettes empêchant la constitution d'un film étalé sur toute la feuille.

Ces essais nous portent à conclure que le point essentiel réside dans l'obtention d'une surface de contact la plus grande possible, et que l'addition de mouillant peut être très considérable.

6) Influence de la teneur en acide phosphorique échangeable dans le sol

Il est logique de s'attendre à une absorption plus forte par les feuilles si la plante est dans l'impossibilité de fixer des phosphates dans le sol.

Nous nous sommes attachés à dégager l'importance de ces facteurs en étudiant le comportement des plantes de *Phaseolus* cultivées sur 10

Tableau I

Influence de l'addition de mouillants, de glycérol et de sucrose

Addition à la solution (0,5% KH_2PO_4 10μc/cm^3)	Activité totale (en impulsions par minute)	Activité moyenne (en impulsions par minute)	Remarques
témoin	538		épandage défectueux
	401		
	396	443	
	439		
1 % Ultra-wet	2.216		—
	2.076		
	2.677	2.351	
	2.436		
1 % Tween-21	1.781		—
	1.926		
	2.607	2.280	
	2.807		
1 % Atlox	334		épandage défectueux
	274		
	414	341	
	343		
1 % X-103	2.648		
	2.984	2.744	—
	3.269		
	2.076		
2,5 % Glycérol	597		épandage défectueux
	—	632	
	665		
	635		
2,5 % Sucrose	335		épandage défectueux
	380		
	459	386	
	371		

sols de teneurs en acide phosphorique différentes. Les vases de végétation (4 répétitions pour un objet) ont été simultanément traités par une solution de KH_2PO_4 0,5 % (activité : 10 μC de P^{32} par cm^3) contenant 1 % de mouillant X-103, une quantité croissante de KH_2PO_4 marqué étant également appliquée dans le sol. Une fumure d'un gramme de KNO_3 en solution pour chacun des 40 vases de végétation a été épandue avant l'ensemencement.

Le tableau II comprend les observations effectuées dans les circonstances de l'essai (1).

Ainsi que le tableau l'indique, la quantité de phosphates absorbée par la feuille, tout d'ailleurs comme par les racines est inversément proportionnelle avec la quantité de phosphates déterminée dans le sol par toutes les méthodes utilisées.

On peut déduire du tableau que la reproductibilité des résultats est très satisfaisante pour les essais biologiques, ce qui nous porte à considérer les résultats comme étant de grande valeur ; l'absorption relativement minime à partir de l'application par les feuilles est due à la quantité restreinte de phosphates appliqués suivant cette voie vis-à-vis de la quantité de phosphates appliqués dans le sol.

Étant donné la grande importance de cet aspect du problème, nous avons effectué une seconde série d'essais (toujours à 3 répétitions) sur un même sol et selon la technique toujours utilisée jusqu'à présent mais prévoyant une culture sur témoin (P_0), une culture sur sol ayant reçu 1,13 g de KH_2PO_4 par vase de 5 kg de sol (P_1) et une culture sur sol ayant reçu une dose double de phosphate, soit 2,26 g KH_2PO_4 pour les 5 kg de sol (P_2) (2).

Le coefficient d'utilisation moyen s'est élevé respectivement à 0,42, 0,29 et 0,085 et le degré d'utilisation à respectivement 18, 14, 12, 64 et 4, 89 pour le *Phaseolus* récolté sur les objets P_0, P_1, et P_2.

Il ressort nettement de ces chiffres que l'absorption par la feuille diminue considérablement lorsque la teneur en phosphates disponibles croît.

Les conclusions rejoignent celles de Higashino et Yatazawa (19) obtenues pour la culture de tomates.

(1) La teneur en acide phosphorique par 100 g de sol a été déterminée par extraction à la solution d'acétate ammonique, utilisée par le Centre de Chimie Physique Agricole (48), à l'acide citrique 1 % suivant Dyer (9), de $NaHCO_3$ 0,5 N suivant Olson et Cole (29) et par échange isotopique suivant Talibudeen (44), le Fe suivant Toth (45) et l'Alumine suivant Jones et Thurman (23).

(2) Le sol présente les propriétés suivantes :
nature : sablonneuse.
pH H_2O : 5,8
pH KCl : 4,9
P_2O_5 en mg par 100 g de sol (selon la méthode du Centre de Chimie Physique Agricole) : 5,4 mg.

TABLEAU II

Influence de la richesse du sol sur l'absorption des phosphates

Nature du sol	pH		Teneur en P^2O^5 (mg par 100 g de sol) méthodes :						Coefficient d'utilisation provenant :			
			Acét. d'am. (48)	Dyer (9)	Olsen (29)	échange isotopique (44)	Fe (45)	Al (23)	de la feuille		du sol	
sablo-limoneux	6,6	5,7	2,9	2,2	14,1	18,6	0,3	1,0	0,80		7,76	
									0,82	0,74	8,83	8,24
									0,81		8,44	
sablo-limoneux	6,8	6,1	10,7	3,2	21,8	33,1	0,2	0,5	0,76		5,08	
									0,68	0,71	5,49	5,43
									0,71		5,73	
sablonneux	5,6	4,4	16,4	5,1	32,8	53,9	0,6	3,0	0,48		3,10	
									0,55	0,51	2,58	2,88
									0,50		2,96	

sablo-limoneux	6,2	5,1	7,1	2,6	17,3	29,0	0,3	1,1	0,68		6,49	
									0,69	0,67	6,63	6,51
									0,64		6,42	
sablo-lim. léger	6,4	5,7	17,5	5,9	33,4	67,1	0,2	0,8	0,52		3,80	
									0,50	0,51	3,70	$3,9_0$
									0,51		4,20	
limoneux léger	7,8	6,9	9,1	3,5	14,9	22,3	0,2	0,4	0,67		9,44	
									0,66	0,68	9,13	9,37
									0,73		9,56	
limoneux léger	7,8	7,1	20,6	6,3	31,3	48,8	1,9	3,5	0,52		1,94	
									0,51	0,50	2,16	2,01
									0,47		1,95	
sablo-lim. léger	6,0	5,1	3,5	3,7	22,6	45,9	1,9	3,0	0,76		3,21	
									0,73	0,76	3,67	3,52
									0,79		3,70	
sablonneux	6,1	4,7	1,6	1,7	14,0	18,8	1,7	3,7	0,81		8,96	
									0,80	0,82	10,34	9,76
									0,83		10,00	
sablo-limoneux	6,9	6,2	5,1	4,3	16,8	30,3	0,2	0,5	0,83		10,50	
									0,70	0,78	10,04	10,06
									0,86		9,65	

Étude de la translocation et de l'accumulation des phosphates absorbés par la feuille

Les données de la littérature concernant la translocation des phosphates dans la plante sont extrêmement divergentes.

Wittwer et Lundahl (49) mentionnent que le transport de combinaisons phosphatées dans le *Phaseolus* est aussi rapide dans le sens feuille/racine qu'en direction opposée. Oliver (28) renseigne que la translocation, toujours pour le *Phaseolus*, s'effectue suivant un processus extrêmement lent, alors que Swanson et Whitney (34) font état du transport rapide d'une partie dite mobile des phosphates.

Suleimanov (42) remarque pour le froment un déplacement très rapide après application d'une solution de phosphates marqués.

Plusieurs autres auteurs encore ont abordé ce problème (6) (35) (46).

Un aperçu général de la littérature nous porte à conclure qu'ici également beaucoup de facteurs jouent un rôle important, dont la nature de la plante et l'élément étudié ; les phosphates se déplaceraient relativement facilement, les alcalino-terreux par contre peu ou pratiquement pas.

L'accumulation de combinaisons du phosphore, à l'aide de sels marqués, a déjà fait l'objet de très nombreuses publications.

Certaines de ces publications, concernent spécialement l'accumulation après absorption par la feuille (12) (18) (24) (27) (28) (37) (50). Les références bibliographiques (dont nous n'avons cité que celles se rapprochant le plus de notre étude) nous semblent à ce point concordantes que l'on peut admettre dès à présent que le phosphore absorbé par la feuille ou par les racines se comporte de la même façon, et s'accumule notamment dans les jeunes tissus, feuilles, semences et racines.

Une question importante, tant du point de vue scientifique que pratique, se pose encore : dans quelle mesure l'absorption de phosphate disponible (ou appliqué) dans le sol entre-t-elle en compétition avec l'absorption de phosphate épandu sur la feuille et vice-versa ?

Vu l'intérêt de cette question, nous l'avons abordée à l'aide de deux méthodes, l'une basée sur la recherche de la perceptibilité limite de la radioactivité par comptage, l'autre par autoradiographie. Les essais par la méthode de « perceptibilité limite » avaient surtout pour but le contrôle de l'interprétation à donner à l'autoradiographie.

Les essais par recherche de la perceptibilité limite de la radioactivité ont été effectués sur *Phaseolus*, cultivé en vases de Mitscherlich, contenant un sol sablo-limoneux de :

pH H_2O : 6,9
pH KCl : 6,2

P_2O_5 échangé suivant la méthode du Centre de Chimie Physique Agricole : 5,14 mg de P_2O_5 par 100 g de sol sec.

Les vases de Mitscherlich (diamètre 20 cm, contenance 5 kg), ont été traités avant ensemencement par 1 g de KNO_3 et 0,5 de phosphate primaire de potassium non marqué ; lorsque les plantes avaient atteint environ 1 m, cinq d'entr' elles ont été gardées par vase ; trois vases de végétation ont reçu à ce moment par application sur la feuille selon la technique décrite plus haut, trois autres par le sol, une quantité de KH_2PO_4 marqué correspondant à 100 microcuries par plante ; à intervalle de 25 minutes à partir de l'application de phosphates marqués (soit par le sol, soit par la feuille), une plante a été prélevée et la tige coupée en tronçons de 2 cm ; les feuilles ont été immédiatement séparées.

Nous avons obtenu ainsi pour les deux séries d'essais (application par la feuille et application par le sol) environ cinquante tronçons ; la durée totale de l'essai atteignant quinze fois 25, soit 375 minutes.

La radioactivité perceptible a été mesurée pour l'application par la feuille dans le sens de la montée de la sève, et dans le sens descendant.

De même, la radioactivité perceptible a été recherchée après application sur le sol.

La figure 2 illustre le mode opératoire :

Les résultats expérimentaux nous ont permis de calculer, par la méthode des moindres carrés, l'équation des courbes de régression. Ces équations sont les suivantes :

Application par la feuille, sens ascendant :

$$Y = 0{,}198\ X - 6{,}15$$

Application par la feuille, sens descendant :

$$Y = 0{,}165\ X + 0{,}56$$

Application par le sol :

$$Y = 0{,}480\ X + 0{,}07.$$

Nous en avons déduit la vitesse de déplacement du P^{32}, qui comporte pour les trois cas respectivement :

12,0 cm. par heure
9,9 cm. par heure
28,8 cm. par heure

La vitesse d'absorption par *Phaseolus* pour les phosphates est donc notablement plus forte après application par la racine.

Après application par la feuille, la sève montante a permis une translocation du P^{32} plus rapide que la sève descendante.

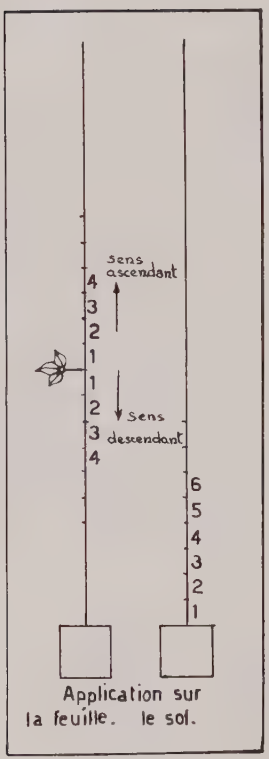


Fig. 2. — Schéma de la disposition des plantes

La technique de l'autoradiographie permet de confirmer les conclusions que nous pouvions attendre après les essais décrits plus haut.

Les expériences destinées à la prise d'autoradiogrammes ont été conduites de la façon suivante : des plantes de *Phaseolus* de 5 semaines ont reçu au lobe central de la première feuille à 3 lobes, une dose de 40 micro-curies de P^{32} dans une solution de 0,5 % d'acide phosphorique suivant les techniques décrites plus haut (8 humidifications à une heure d'intervalle).

Quarante-huit heures après l'application de phosphate marqué, la feuille ayant reçu l'application a été éliminée (voir photo 3) afin d'éviter toute influence sur le film, légèrement comprimée, et séchée à 70° pour empêcher le transport ultérieur de sève. Après séchage complet (environ 5 heures) les plantes ont été mises en contact avec le film pour autoradiographie (Gevaert X Ray Film, Structurix D7) ; les films ont été développés après 8 jours de contact.

PHOTO 3.

L'autoradiographie II permet de se rendre compte de la translocation du phosphore pour des feuilles jeunes, et pour des feuilles provenant d'un stade physiologique plus avancé.

On remarquera sur l'autoradiogramme III que les racines, bien que soigneusement rincées, présentent une grande radioactivité.

Une translocation toute différente a eu lieu 24 heures déjà après application du phosphate marqué,par la racine ; les feuilles primordiales rendues à peine radioactives par les produits de translocation du P^{32} après application par la feuille, sont particulièrement visibles après application par le sol ; ceci nous porterait à croire qu'au moins dans le premier stade de la croissance les phosphates suivent essentiellement le courant de la sève, de la racine vers les feuilles.

AUTORADIOGRAPHIE II

AUTORADIOGRAPHIE III

Conclusion

Cette étude concernant l'alimentation par la feuille démontre suffisamment l'intérêt scientifique et pratique d'une connaissance plus approfondie du transport des ions en vue de la nutrition minérale de la plante ; l'usage de radio-isotopes peut fournir des renseignements de la plus haute valeur.

Elle indique qu'au moins pour les phosphates, l'application par la feuille donne lieu à une absorption et surtout à une translocation qui diffèrent notablement de celles après absorption par la racine.

BIBLIOGRAPHIE

(1) Andreev S. B., Voevodin A. V., Molchanova V. A., Khotyanovich, A, V. *Proc. sec. Unit. Nat. Intern. Conf. Peacef. uses of Atom. Energ.*, vol. 27, 85-92 (1958).
(2) Askew H., Chiltenden, E. *J. Pomol. Hort. Sci.*, 14, 242 (1936).
(3) Baldacci, E., Betto, E., Foa, R., Volpi, A. *Proc. sec. Unit. Nat. Int rn. Conf. Peacef. uses of Atom. Energ.*, vol. 27, 37-41 (1948).
(4) Boguslawski, E., Vomel, A. *Landwirtschafliche Forschung*, 9, 83-94 (1957).
(5) Braucher, O., Southwick, R. *Proc. Amer. Soc. Hort.Sci.*,39, 133-136 (1941).
(6) Bukovac, M., Wittwer, S. *Plant Physiology*, 32, Suppl. XXXIX (1957).
(7) Cook A., Boynton, D. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 59, 82-90 (1952) .
(8) Dickey, R., Drosdoff, M., Hamilton, J. *Fla. Agr. Expt. Sta. Bull.*, n° 447 (1948).
(9) Dyer, B. *Trans. Chem. Soc.*, 66, 115 (1894).
(10) Eckert, J., Childers, N. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 63, 19-23 (1954).
(11) Eggert, R., Kardos, L. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 64, 47-51 (1954).
(12) Eggert, R., Kardos, L., Smith, R. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, 60, 75-86 (1952).
(13) Fischer, H. *Hoosier horticult*, 31, 91-94 (1949).
(14) Fischer, E. Walker, D. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 65, 17-24 (1955).
(15) Fudge, B. *Fla. Agr. Expt. Sta. Ann. Rept.*, 1934, 81-82 (1935).
(16) Fudge, B. *Fla. Agr. Expt. Sta. Ann. Rept.*, 135, 97 (1936).
(17) Gar, K. A., Kipiani, R. J. Actes Conf. Int. Genève, vol. XII, 214-230 (1955).
(18) Herbst, W. *Die Phosphorsaüre*, 13, 4, 232-256 (1935).
(19) Higashino, S., Yatazawa, M. *Sci. Rept. Shiga Agr. Coll.*, 1, 39-41 (1952).
(20) Hiltner, L. *Pflanzenbau u. Pflanzenschutz*, 7, 17 (1909).
(21) Hiltner, L. *Pflanzenbau u. Pflanzenschutz*, 10, 6 (1912).
(22) Hiltner, L., Kronberger, M. *Ernährung der Pflanze*, 20, 65 (1924).
(23) Jones, L., Thurman, D. *Plant and Soil*, IX, 2, 131-142 (1957).
(24) Kopershinski, W. Scheberstow, W. *Ber. Akad. Wiss. U.R.S.S.*, 106, 1061-1064 (1956).
(25) Lambertz, P. *Planta*, 44, 147-190 (1954).

(26) Long, W., Trubner, F. Wittwer, S., Lindstrom, R. *Plant Physiology*, 30, suppl. XVIII (1955).
(27) Negrul, A., Assrijen, R. *Ladwirtsch. Timirjasew-Akad.* 15, 3 (1955).
(28) Oliver, W. *Sci. Agr.*, 32, 427-432 (1952).
(29) Olsen, S., Cole, C., Watanabe, F., Dean, L. U.S. Department of Agriculture, Circular, 9, 39 (1954).
(30) Palmiter, D., Roberts, E. Southwick, M. *Phytopathology*, 36, 681, (1946).
(31) Parker, E. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 31, 98-107 (1934).
(32) Parker, E. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 35, 82-86 (1936).
(33) Parker, E. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 35, 217-226 (1938).
(34) Parker, E., Southwick, R. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 39, 51-58 (1941).
(35) Petersburgski, A. *Nachr. Landw. Timirjasew-Akad.*, 16, 105-120 (1956).
(36) Roberts, E., Southwick, M. Palmiter, D. *Plant. Physiology*, 23, 557-559 (1948).
(37) Silberstein, O., Wittwer, S. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 58, 179-190 (1951).
(38) Sosa-Bourdouil, C., Lecat, P. *Compt. Rend. Acad. Agr. Fr.*, 234, 2221-222 (1952).
(39) Sosa-Bourdouil, C. Lecat, P. *Année. biol.*, 60, 341-369 (1956).
(40) Stewart, I., Leonard, C. *Nature*, 170, 714-716 (1952).
(41) Stewart, I., Leonard, C. D. Actes Conf. Int. Genève, vol. XII, 214-230 (1955).
(42) Suleimanov I. *Uchen. Zap. Kanzan. Univ.*, 116, N° 212-216 (1956).
(43) Swanson, C., Withney, J. *Amer. Journ. Bot.*, 40, 816-823 (1953).
(44) Talibudeen, O. *The journal of soil Science*, 8, N° 1, 86-96 (1957).
(45) Toth, F. *Soil Science*, 66, 459 (1948).
(46) Tukey, H., Wittwer, S., Teubner, F., Long, W. Actes Conf. Inter. de Genève, vol. XII 156-162.
(47) Tukey, H., Wittwer, S., Teubner, F., Long, W. *Quarterly Bulletin*, Michigan Exp. Sta., 39, 398-415 (1956).
(48) Van den Hende, A., Cottenie, A. H. Comp . Rend. Rech. I.R.S.I.A. n° 25 (1960).
(49) Wittwer, S. Lundahl, W. *Plant Physiology*, 26, 792-797 (1951).
(50) Yatazawa, M. *Die Phosphorsäure*, 14, 4, 219-226 (1954).
(51) Yatazawa, M., Tai, K. *J. Sci. Soil Manure*, Japan, 24, 93-95 (1953).

Résumé

L'absorption d'éléments nutritifs par la feuille attire en ce moment l'attention toute particulière des milieux agricoles et surtout horticoles ; il est en effet connu que cette absorption peut s'avérer particulièrement efficace dans la lutte contre les maladies physiologiques occasionnées par des déficiences en éléments mineurs et donnent lieu à des résultats très rapides.

En plus, les cultures se développant sur certains sols susceptibles de fixer des éléments majeurs tel le phosphore, seront traitées de préférence par application immédiate de solution nutritive sur la feuille empêchant ainsi les processus chimiques, freinant l'absorption de l'élément en l'incorporant au sol.

L'usage de radioisotopes nous a rendu possible d'effectuer une étude approfondie des facteurs influençant l'absorption par la feuille et le transport des éléments nutritifs apportées sur celle-ci.

Le premier objectif à atteindre était de mettre au point une technique nous permettant d'assurer l'absorption d'une quantité *connue* d'un élément nutritif mis en contact avec la feuille ; cette mise au point préliminaire nous a conduit à la description d'une technique expérimentale nouvelle.

Faisant usage de cette technique, nous avons examiné successivement pour l'absorption des phosphates, l'influence de l'âge physiologique de la feuille par rapport à cette absorption, l'influence de la partie de la feuille, de la concentration de la solution nutritive, du pH de cette solution, de la réserve en phosphates et enfin le déplacement des phosphates rendus actifs dans les différents organes de la plante en fonction du temps après absorption par la feuille.

A study of foliar nutrition using radioactive isotopes

Summary

Agricultural and especially horticultural circles take a great deal of interest in the absorption of nutritive elements through the leaves ; it is in fact known that this absorption can prove extremely effective in the control of physiological diseases caused by a deficiency of trace elements.

Moreover, crops growing on soils likely to fix major plant constituents e.g. phosphorus, can best be treated immediately by spraying a nutritive solution on the leaves, thus preventing the chemical processes involved in the fixing of the element from interfering with its absorption.

The use of radioactive isotopes has made it possible to carry out a thorough investigation of the factors affecting leaf absorption and translocation of the nutritive elements applied.

Developing a technique making it possible to ensure the absorption of a *known* quantity of a nutritive element in contact with the leaf was the first objective ; a description is given of a new experimental technique.

Making use of this technique in the study of phosphate absorption, the influence of the physiological age of the leaf in respect of this absorption, the influence of the part of the leaf treated, of the concentration and pH of the nutritive solution, of the phosphate reserve and the translocation of the activated phosphates in the different plant organs were examined in terms of the time elapsed after absorption by the leaf.

Untersuchungen der Ernährung durch das Blatt mit Hilfe radioaktiver Isotopen

Zusammenfassung

Die Absorption von Nahrungsstoffen durch das Blatt zieht zur Zeit in besonderem Masse die Aufmerksamkeit der Landwirtschaft und des Gartenbaus auf sich ; es ist tatsachlich bekannt, dass sich diese Absorption als

besonders wirkungsvoll im Kampf gegen diejenigen physiologischen Krankheiten, die durch Mangel an Spurenelementen verursacht werden, erweist, und dass sie zu sehr schnellen Ergebnissen führt.

Ausserdem werden Kulturen, die auf bestimmten, umfangreichere Elemente — wie z.B. Phosphor — enthaltenden Bodenarten gedeihen, bevorzugt behandelt, und zwar durch die unmittelbare Anwendung einer Nährlösung auf das Blatt, was die chemischen Prozesse durch Störung der Absorption der im Boden befindlichen Nährstoffe verhindert.

Die Anwendung von Radio-Isotopen hat uns eine genauere Untersuchung der Faktoren ermöglicht, die die Absorption durch das Blatt und den Transport der Nahrungsstoffe, die diesem zugeführt werden, beeinflussen.

Das erste zu erreichende Ziel war, ein Verfahren zu ermitteln, das die Absorption einer *bekannten* Menge eines mit dem Blatt in Verbindung gebrachten Nährstoffes gewährleistete. Diese vorherige Klarstellung hat uns zur Beschreibung eines neuen experimentellen Verfahren geführt.

Unter Anwendung dieses Verfahren haben wir nacheinander bezüglich der Absorption von Phosphaten den Einfluss des physiologischen Alters des Blattes in Bezug auf diese Absorption, den Einfluss des Blatteils, der Konzentration der Nährlösung, PH dieser Lösung, der Phosphatreserve und endlich der Verlagerung des Phosphats, das in den verschiedenen Organen der Pflanze nach der Absorption durch das Blatt aktiv geworden ist, untersucht.

Étude de l'influence de la couverture du sol sur la translocation du phosphore (*)

par M. T. Ferauge, G. Monoyer (**)
Assistants (IRSIA)
M. A. Picard, T. Trzcinski,
Chefs de Travaux (IRSIA)
et F. Massaux
Assistant Chaire de Physique, Gembloux (Belgique)

Dans cet exposé, nous donnons un aperçu aussi complet que possible des essais préliminaires qui ont été entrepris afin d'aborder l'étude de l'influence de la couverture du sol des vergers sur la translocation du Phosphore au niveau du système radiculaire des arbres fruitiers.

L'intérêt de ce problème réside dans le fait que l'arbre fruitier exploite des zones du sol relativement profondes et que le Phosphore ayant une mobilité très restreinte, tout apport de celui-ci en vue d'une correction de carence ou de déséquilibre nutritionnel nécessite un temps très long avant de manifester ses effets. La couverture du sol pourrait dans ce cas avoir un rôle à jouer.

Les réponses aux questions que soulève ce problème ne pourront être obtenues que moyennant des études préliminaires en laboratoire, qui, avant de pouvoir statuer définitivement, devront être transposées en plein champ. Cette transposition présente cependant de nombreux aléas : il suffit en effet de considérer les activités importantes du P 32 qui devraient être mises en œuvre, vu les caractéristiques-mêmes de l'arboriculture fruitière, pour comprendre que l'étude directe de ce problème sur le terrain est pratiquement impossible.

A. — Sujets étudiés

a. En premier lieu, *la couverture du sol facilite-t-elle ou ralentit-elle le transport des éléments nutritifs et plus particulièrement du Phosphore au niveau des racines des arbres fruitiers ?*

Les études de Burd sur l'orge, de Delaneo sur le tabac, de Knowles sur la betterave et enfin de Achromeiko sur les légumineuses ont attiré l'attention sur les possibilités d'une excrétion radiculaire du Phosphore.

(*) Recherches subsidiées par l'Institut pour l'Encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture (I.R.S.I.A).

(**) Assistant à la Chaire de Phytotechnie tempérée de l'Institut agronomique.

C'est ainsi que d'après Achromeiko, les légumineuses pourraient excréter des quantités appréciables de $P_2 O_5$ au moment de la floraison.

D'après Demolon, cette possibilité d'excrétion de matières salines doit sans doute être liée, soit à un excès non utilisé, soit à une diminution de vitalité de la plante. En effet, ces éléments se trouvent normalement dans le protoplasme cellulaire à l'état de combinaisons qui le soustraient à la diffusion dans le milieu extérieur ; celle-ci s'observe au contraire pour tous les tissus en voie de vieillissement ou ayant cessé de croître pour une cause quelconque.

Outre cette possibilité d'une excrétion radiculaire, la couverture du sol pourrait agir encore autrement sur le transport du Phosphore dans les zones plus profondes du sol. En effet, le Phosphore épandu sous forme d'engrais très soluble serait assimilé par la plante de couverture dans la partie superficielle du sol, transporté dans tout le végétal et enfin abandonné sous forme de déchets radiculaires dans les zones plus profondes lors de la mort de la plante de couverture.

2. Tout ceci nous amène à une deuxième question : *quelle est la relation qui devrait exister entre le moment d'application de la fumure phosphatée et le stade phénologique de la plante utilisée comme couverture du sol* ?

Comme nous venons de le signaler, cette excrétion du Phosphore présenterait un maximum à un stade phénologique bien déterminé. Dans ce cas, nous devrions, une fois celui-ci établi pour la plante envisagée, essayer au moyen de techniques culturales appropriées de le faire coïncider non seulement avec le moment où les besoins nutritionnels de l'arbre sont les plus élevés vis à vis de cet élément, mais aussi où son aptitude à le prélever est à son optimum.

3. Une dernière question se pose : *quelles sont, en fonction des besoins précédemment énumérés, les différentes espèces et variétés de plantes susceptibles d'être sélectionnées en vue de constituer la couverture du sol* ?

Il ne nous est pas possible de répondre actuellement à aucune de ces questions, le problème n'étant à l'étude que depuis quelques mois. La période écoulée n'a pu servir qu'à mettre au point les techniques expérimentales.

B. — **Techniques expérimentales**

Le mode de culture choisi est l'aquiculture réalisée dans des vases en matière plastique (photographies nos 1 à 4). On remarque qu'une partie du système radiculaire de la plante étudiée est alimentée par une

solution nutritive marquée au moyen de ^{32}P (vase n° 1) tandis que l'autre se trouve dans une solution ne contenant pas de radioisotopes (vase n° 2). Ceci afin de vérifier le relâchement dans le vase n° 2 du ^{32}P prélevé dans le vase n° 1, après le passage de celui-ci dans la plante.

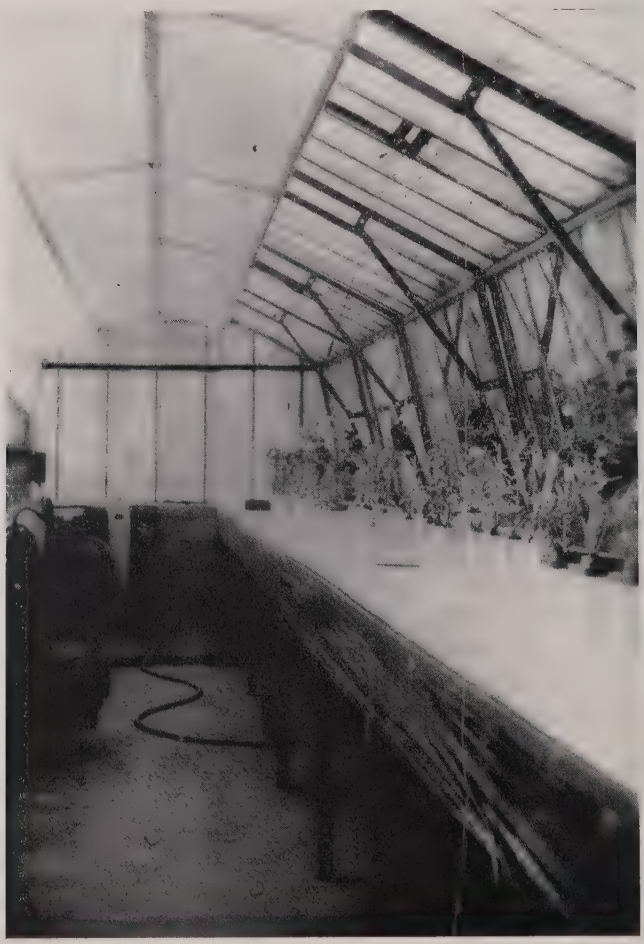


FIG. 1 — Vue d'ensemble de la serre d'expérimentation

Pour les premiers essais, la méthode du niveau constant, comme le montre la photographie n° 5, avait été utilisée. Il n'a cependant pas été possible de continuer à employer ce procédé à cause des risques de contaminations qu'il créait et des phénomènes de diffusion dans les solutions.

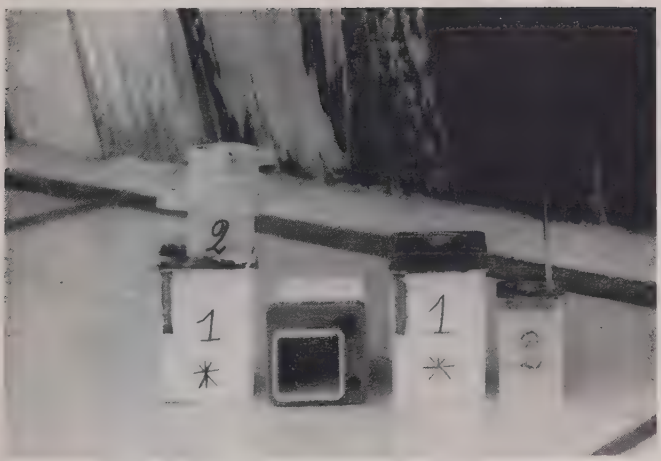


FIG. 2 — Matériel d'aquiculture constitué de 2 vases en matière plastique s'emboîtant l'un dans l'autre

FIG. 3 — Matériel végétal préparé pour l'expérimentation

FIG. 4 — Plante de trèfle placée dans le double vase

En effet, du fait qu'il n'était pas possible de marquer la solution avant sa mise en place dans les vases, la diffusion lente, vers les flacons supérieurs, du ^{32}P ajouté à la solution des vases n° 1 avait pour conséquence une variation d'activité spécifique au cours de l'expérience. Cette variation rendait particulièrement délicate l'interprétation des résultats analytiques. Aussi les flacons ont-ils été supprimés et remplacés par une remise à niveau périodique des solutions dans les vases.

La teneur en mg/l des solutions nutritives (pH : 6,5) est donnée dans le tableau ci-dessous :

N	38	Si	30
S	23	K	200
P	11	Ca	104
Ce	96	Mg	36
		Na	50

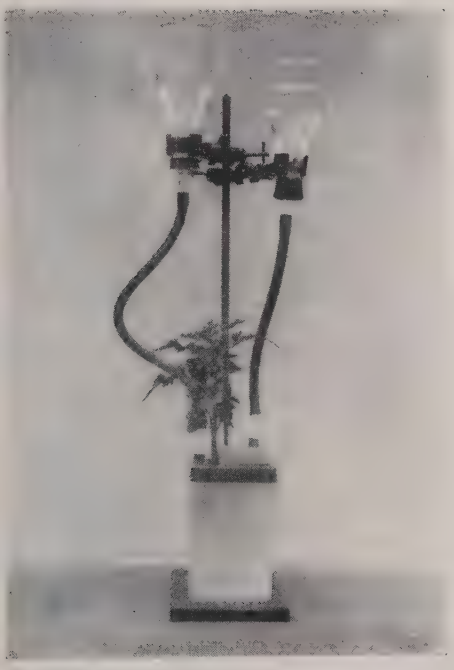


FIG. 5 — Matériel d'aquiculture à niveau constant

Les teneurs en ppm des éléments mineurs sont les suivantes :

Acide borique	0,9 ppm
Sulfate de Zn	0,9 ppm
Sulfate de Mn	0,9 ppm
Sulfate de Cu	0,2 ppm
Citrate de Fe	1,8 ppm

La durée des expériences est de 21 à 35 jours. Tous les trois jours un prélèvement est effectué dans la solution nutritive contenue dans les vases n° 2, c'est-à-dire dans les vases ne contenant pas de solution marquée initialement, ceci afin de suivre l'évolution du relâchement du ^{32}P.

En fin d'essai, est réalisée une analyse complète portant sur : la solution marquée des vases n° 1, la solution des vases n° 2, les racines plongeant dans la solution non marquée initialement et enfin sur la partie aérienne des plantes.

C. Essais réalisés et résultats

Lors des premiers essais qui ont été réalisés, les vases n° 1 étaient remplis au moyen d'une solution nutritive complète marquée par 1 mC de ^{32}P tandis que les vases n° 2 étaient remplis de trois façons différentes, à savoir :

— une première série, au moyen d'une solution nutritive complète identique à celle des vases n° 1.
— une deuxième série, au moyen de la même solution mais dépourvue de Phosphore.
— une troisième série, au moyen d'eau distillée.

Ceci afin de voir, au cas où le passage se manifesterait, s'il était dû à un échange Phosphore-Phosphore ou un échange Phosphore contre un autre élément ou enfin à un simple relâchement de Phosphore.

Ce premier essai a porté sur 45 plantules de *Senecio vulgaris* L. (15 répétitions par traitement). Il faut noter que le choix de ce végétal a été déterminé principalement par sa résistance aux conditions de culture imposées et par le fait qu'à l'époque où l'essai a été réalisé, (octobre) il n'était pas encore entré en repos végétatif. Aussi ne faut-il pas voir dans ce choix, un indice comme quoi ce végétal pourrait servir de couverture du sol.

A la suite de cet essai, les constatations suivantes ont pu être faites : aucun passage de ^{32}P dans l'eau distillée n'a été décélé.

Par contre, entre la solution complète et celle dépourvue de Phosphore, on a enregistré la présence du ^{32}P dans la proportion de 5 à 1.

Il ne nous est pas encore permis de tirer de ceci des conclusions générales, ces résultats ne sont valables que pour les conditions de l'essai.

Par contre, cette expérience a permis de mettre en évidence l'impossibilité de faire un bilan du Phosphore et d'obtenir des résultats mieux contrôlés, aussi longtemps que les questions suivantes n'auront pas été résolues, à savoir :

1. Quelle est l'évolution chimique des solutions nutritives ?
2. Quelle est l'importance de l'adsorption du ^{32}P sur le matériel de culture ?
3. Quelle est l'influence des diverses radioactivités des solutions nutritives sur le prélèvement du Phosphore et sur le rejet de celui-ci par la plante ?

Pour répondre à la première de ces questions, une analyse périodique des solutions nutritives contenues dans une série de vases témoins nous permet de déterminer l'évolution de leur composition, notamment au point de vue de leur teneur spécifique en P chimique.

La deuxième question, concernant l'importance de l'adsorption du ^{32}P sur les vases en matière plastique est étudiée au cours de chaque essai.

Quant à la troisième question se rapportant à l'influence sur le prélèvement et le rejet du P par la plante, des différentes radioactivités mises en œuvre, des essais ont été effectués sur deux espèces végétales différentes : le *Tradescantia viridis* Hort. et le *Trifolium repens* L. Des boutures de Tradescantia enracinées ont été choisies en premier lieu parce-qu'elles constituaient, pour un essai préliminaire, un matériel s'adaptant facilement à l'aquiculture.

Le trèfle blanc a ensuite été choisi pour l'expérimentation, parce que, en temps que légumineuse, ses besoins en P sont élevés et aussi parce qu'il représente une plante de couverture assez couramment rencontrée dans les vergers.

Au moment de l'essai, les trèfles se trouvaient au stade phénologique de la floraison.

Les 5 radioactivités mises en œuvre s'échelonnent de 22 μC à 3,5mC par vase pour le Tradescantia et de 26 μC à 5,2mC par vase pour le trèfle.

A la suite de ces essais, on a observé que les deux plantes envisagées sont différemment influencées par les activités croissantes des solutions marquées.

L'analyse effectuée, sur la matière sèche des plantes entières (tiges, feuilles, racines et éventuellement fleurs pour le trèfle) montre que le Tradescantia absorbe le P en quantité de plus en plus réduite au fur et à mesure de l'accroissement d'activité des solutions marquées et cela dans les proportions allant de 4 à 1 pour les extrêmes d'activités.

Parallèlement, l'analyse en fin d'essai de la solution nutritive non marquée indique une diminution de relâchement du P par les racines au fur et à mesure de l'accroissement d'activité des solutions marquées et cela dans les proportions de 7 à 1 pour les extrêmes d'activité.

D'autre part, en ce qui concerne le trèfle, il a été constaté que les radiations n'ont pas une nette influence sur l'absorption du P et sur l'excrétion de celui-ci par les racines.

Dans les conditions de l'essai, les plantes de trèfle ont relâché en moyenne : 18 μgr de P par gr de M.S. (1) de racines et 1,5 μgr de P par gr de M.S. de plantes entières, non compris le P adsorbé sur les parois des vases.

Toutes ces observations doivent évidemment être confirmées par des essais ultérieurs. Quoi qu'il en soit, il s'avère indispensable pour chaque

(1) Matière sèche.

plante expérimentée de rechercher l'activité optimale des solutions à utiliser au double point de vue de son efficacité expérimentale et de son inocuité à l'égard de la plante envisagée.

Un autre essai a eu pour but de rechercher l'influence de la concentration en P chimique de la solution nutritive sur l'absorption et le relâchement de celui-ci par la plante.

D'après WITTWER, on a observé une exsudation de P à partir des racines de froment et ce serait la concentration active de la solution qui conditionnerait l'intensité de cette secrétion. Celle-ci se ferait sous forme d'orthophosphate. Pour vérifier ces données dans le cas qui nous intéresse, 20 plantes de trèfle ont été placées dans deux solutions nutritives différentes, l'une contenant 10 fois plus de P chimique que l'autre.

L'expérience venant de se terminer, nous n'en connaissons pas encore les résultats.

D. **Essais en cours**

Ils ont pour but de rechercher dans quelle mesure le P relâché par le trèfle peut-être assimilé par le pommier.

Une plantule de pommier (*Jonathan*) âgée de 5 mois est placée dans le vase n° 2, ses racines plongeant donc dans la solution contenant le P radioactif rejeté par le trèfle.

L'activité éventuelle des tissus des plantes de pommier indiquera dans quelle mesure le composé phosphoré rejeté par le trèfle est assimilable.

L'identification de la forme de ce composé fera l'objet d'une étude chromatographique.

E. **Orientation des Recherches futures**

Des essais analogues à ceux qui viennent d'être décrits seront répétés avec des trèfles à différentes phases de développement, ainsi qu'avec d'autres plantes qui servent de couverture du sol des vergers ou qui sont susceptibles d'être employées dans ce but. Il est à noter que les plantes à enracinement profond présentent un intérêt tout particulier dans cette étude. Il est prévu de s'intéresser aux plantes suivantes :

Trifolium incarnatum L., *Medicago sativa* L., *Vicia villosa* ROTH., *Poa trivialis* L., *Dactylis glomerata* L., *Festuca arundinacea Schreb.*, *Lolium multiflorum Lam.*, var. *westerwoldicum*, *Brassica campestris* L., var. *rapa* (L) *Harman*, etc...

Comme on a pu le voir, si les renseignements obtenus nous éclairent sur certains points, ils ne nous permettent pas actuellement d'évaluer

quantitativement la contribution de la plante de couverture à l'enrichissement du sol en P. Les résultats acquis ne valent en effet que pour l'aquiculture.

C'est pourquoi, parallèlement aux essais en laboratoire, nous nous proposons de rechercher les conditions de relâchement du P par la plante de couverture dans son milieu naturel.

Résumé

Les essais entrepris au moyen de ^{32}P ont pour but de dégager l'influence de la couverture du sol sur la translocation du Phosphore.

Dans cette étude, nous nous proposons de rechercher :

1. — L'importance de l'espèce et de la variété de plante cultivée comme couverture du sol ;
2. — l'importance de l'époque d'application des engrais phosphatés en relation avec le cycle phénologique de la plante utilisée ;
3. — l'interaction des pratiques culturales.

Tous ces problèmes seront étudiés tant au point de vue quantitatif que qualitatif.

Des essais sont préalablement exécutés en laboratoire.

Les premières expérimentations ont eu pour objet la mise au point des techniques culturales et des tests indispensables pour étayer la validité des observations et la sensibilité des méthodes employées.

Ont été testés :

1.— l'évolution ionique des solutions dans le temps ;
2. — l'importance de l'adsorption du Phosphore radioactif sur le matériel de culture ;
3. — les manipulations à tous les stades de l'expérimentation ;
4. — l'importance de la radioactivité utilisée.

Les essais actuellement en cours tentent à établir, au point de vue quanti tatif, l'influence sur l'excrétion radiculaire du Phosphore, de l'espèce, de la variété et du stade phénologique des plantes susceptibles de servir de couverture du sol.

A study of the influence of the gerbaceous soil-vocering on the translocation of phosphorus

Summary

Experiments have been carried out with ^{32}P, with the view of elucidating the influence of soil-covering on phosphorus translocation.

It is proposed to investigate :

1) the importance of the plant species and variety grown as soilcovering ;

2) the importance of the time of application of phosphorus fertilizers, in relation to the phenological cycle of the plant used ;

3) the interaction of cultural operations.

All those problems will be studied both quantitatively and qualitatively.

Preliminary tests are conducted in the laboratory.

The first experiments aimed at fixing up the cultural techniques and the indispensable tests for substantiating the validity of the observations and the sensitiveness of the methods used.

Have been tested :

1) ionic behaviour in the solutions in the course of time,

2) the importance of the adsorption of radioactive phosphorus on the culture material,

3) the manipulations in all stages of the experiment,

4) the importance of the degree of radioactivity used.

The experiments in progress seem to indicate, the quantitative effect on the plant species, the variety and the phenological stage of the plants likely to be used as cover corps, on the excretion of phosphorus by the roots.

Untersuchung des Einflusses der Bodendecke auf die Translokation des Phosphors

ZUSAMMENFASSUNG

Das Ziel der Untersuchungen war die Feststellung des Einflusses der Bodendecke auf die Translokation des Phosphors. Die Versuche wurden mittels P^{32} vorgenommen.

Bei diesen Versuchen wollten wir folgendes klären :

1. — Bedeutung der Art und Sorte der Kulturpflanze als Bodendecke.

2. — Bedeutung der Zeitspanne der Phosphatdünger-Anwendung in Beziehung zum phänologischen Zyklus der verwendeten Pflanze.

3. — Einfluss der Kulturmassnahmen.

Alle genannten Probleme wurden sowohl vom quantitativen als auch vom qualitativen Gesichtspunkt untersucht.

Die ersten Versuche hatten zum Ziel, die Kulturtechnik festzustellen und die notwendigen Prüfungen der Gültigkeit der Beobachtungen und der Präzision der angewandten Methoden festzulegen.

Es wurden folgende Fragen untersucht :

1. — Zeitliche Ionenentwicklung der Lösungen.

2. — Bedeutung der Absorption des radioaktiven Phosphors für das Kulturmaterial.

3. — Massnahmen für alle Entwicklungsphasen.

4. — Bedeutung der angewandten radioaktiven Wirkung.

Die gegenwärtig laufenden Versuche haben zum Ziel, den Einfluss des Phosphors, der Art, der Sorte, der phänologischen Phase der sich für die Bodendecke eignenden Pflanzen, vom quantitativen Gesichtspunkt aus, festzustellen.

Évolution du Sr^{90} dans les sols et les végétaux : analyse des résultats obtenus en 1959

par R. Kirchmann

Chargé de Recherches, Centre d'Étude de l'Énergie nucléaire, Mol (Belgique)

Introduction

Lors des explosions nucléaires des produits de fission sont engendrés et des quantités plus ou moins importantes selon le type, la puissance et la hauteur d'explosion de l'engin sont envoyées dans la stratosphère. Après un séjour sur la durée duquel il n'y a pas d'accord unanime, les produits de fission retombent sur la surface du globe et contaminent la biosphère.

Parmi les produits de fission le Sr^{90} a, le premier, retenu l'attention des milieux scientifiques en raison du « rendement » élevé en Sr^{90} (environ 4 à 5 %) lors de la fission d'U^{235}, de la similitude des propriétés chimiques du strontium et de celles du calcium dont l'importance biologique est bien connue, de la demi-vie radioactive du Sr90 qui est longue (28 ans) et enfin de sa demi-vie biologique qui est relativement longue (10 ans) (1). Le Sr^{90} est donc de nature à constituer un grave danger biologique dont les conséquences, observées lors d'expériences sur certains mammifères, sont l'apparition de la leucémie et de tumeurs osseuses. Le Sr^{90} est principalement produit à partir du Kr^{90} selon le processus :

$$Kr^{90} \xrightarrow[T\,½\ 33sec]{\beta\ 3{,}2\ Mev} Rb^{90} \xrightarrow[2{,}7\ Min]{\beta\ 5{,}7\ Mev} Sr^{90} \xrightarrow[28\ ans]{\beta\ 0{,}6\ Mev} Y^{90} \xrightarrow[64{,}6\ H]{\beta\ 2{,}3\ Mev} Zr90\ (Stable)$$

Les résultats, discutés dans le présent rapport, concernent la contamination par le strontium-90 des sols, des herbages et des laits en Belgique. En 1959 nous avons récolté, périodiquement, des échantillons de précipitations atmosphériques, de sols, de végétaux et de lait dans sept stations installées en des lieux dont le choix a été décidé après examen des facteurs pédologiques et climatiques. La description complète des stations « sunshine » ainsi que les méthodes d'échantillonnage employées ont fait l'objet du rapport CEN R 1667. Rappelons ici que les stations sont établies sur de vieilles prairies permanentes et que chacune des stations comprend 4 parcelles d'expérimentation.

Les méthodes d'analyse radiochimique utilisées pour la détermination de la teneur en strontium-90 sont longues et compliquées d'où

limitation du nombre d'échantillons mesurés annuellement. Les résultats complets de l'analyse des échantillons récoltés en 1959 ont été publiés récemment (C.E.N. R 1838, mars 1960), nous ne reproduirons dans le présent rapport que les résultats utiles à leur discussion.

Précipitations atmosphériques

Les mesures des échantillons récoltés ont montré un apport variant de 2,56 à 6,28 mc Sr^{90}/Km^2 selon les régions. Ces valeurs élevées résultent, en grande partie, des explosions nucléaires de l'automne 1958.

Le tableau 1 montre la non-uniformité des retombées radioactives au cours de 1959, d'autre part l'activité spécifique des précipitations a été très variable.

Tableau I

Période	mc Sr^{90}/Km^2, déposé			Act. spécif. 10^{-8} μc Sr^{90} ml pluie		
	minim.	maxim.	moy. (1)	minim.	maxim.	moy. (1)
1959						
1er sem.	2,15±0,04	5,77±0,20	3,14±0,12	0,70	1,19	0,95
2e sem.	0,21±0,02	0,92±0,04	0,55±0,03	0,10	0,37	0,24

Ces variations assez considérables dans la quantité de Sr^{90} déposée sont dues, en ordre principal, aux différences dans les chutes de pluie enregistrées aux diverses stations. Cette relation entre la quantité de Sr^{90} déposée et les chutes de pluie a été observée dans des régions situées sous une même latitude (2).

Les faibles teneurs Sr^{90} des sols dans les régions où les chutes de pluie sont faibles fournirent la première évidence que la pluie est le facteur de contrôle (3) (4).

Des relations entre le dépôt total de Sr^{90} et la quantité de pluie ont aussi été observées dans d'autres régions géographiques limitées (5) (6).

Cependant d'autres facteurs affectent le dépôt Sr^{90} : la distribution saisonnière de la pluie, le type de pluie, le mode de circulation régionale de l'air ainsi que la proximité des sites des tests nucléaires (4).

Sols

Nous ne connaissons pas avec précision, à l'heure actuelle, le rendement chimique des analyses effectuées, les valeurs relatives aux quan-

(1) Moyenne des stations I à VI.

tités de Sr^{90} présentes dans la couche 0-45 cm des sols analysés sont donc estimées. Les teneurs seraient comprises entre 7 et 20 mc Sr^{90}/Km^2 selon les régions, les sols provenant des régions où les chutes de pluie sont les plus fortes accusant les teneurs les plus élevées. Les valeurs trouvées sont du même ordre de grandeur que celles observées dans les sols situés dans les latitudes tempérées Nord, la zone comprise entre 40° et 50°N accusant un pic marqué dans le dépôt Sr^{90} cumulatif par rapport aux autres régions du globe (7). On doit aussi se rappeler que la pluie est, sans aucun doute, le mécanisme principal qui amène au sol le Sr^{90} de l'atmosphère.

L'analyse des sols belges provenant des stations « Sunshine » nous a donné des valeurs comprises entre 3,1 et 100 S.U. (1) selon l'origine des échantillons et la profondeur du prélèvement ; en général, les valeurs S.U. les plus élevées ont été observées dans la couche superficielle du sol.

Ces résultats concordent avec ceux signalés par différents auteurs selon lesquels le radiostrontium se déplace très peu verticalement (8) (9) (10).

D'après L. T. Alexander, les sols collectés en 1958 aux U.S.A. dans les sites HASL ont montré qu'en moyenne plus de 80 % de Sr^{90} accumulé était localisé dans la couche 0-5 cm. Cependant dans les cas de sols riches en vers de terre ou de sols qui se fendillent sous l'action de la dessiccation, le Sr^{90} pénètre plus profondément (7).

Il est à remarquer que nous avons trouvé la présence de Sr^{90} dans la couche 30-45 cm des parcelles dénudées de chacune des stations « Sunshine ».

Végétaux

Nous avons constaté une grande différence entre la teneur en Sr^{90} de l'herbage des vieilles prairies et celle des plantes de l'année, ainsi que le montre le tableau 2.

La raison principale de cette différence peut être trouvée dans le fait que le pic des retombées radioactives se situe au printemps (2), époque à laquelle le développement foliaire des plantules est faible par rapport à celui de l'herbage permanent ; or le phénomène de la rétention directe contribue pour une large part à la contamination des végétaux par le fallout.

(1) S.U. = Unité Strontium, aussi appelée « Unité Sunshine ». 1 S.U. = 1 $\mu\mu$c Sr^{90}g/Ca.

Tableau 2

Type d'échantillon (1)	Récolte Date	$\mu\mu c$ Sr^{90}/Kg M.S.			$\mu\mu c$ Sr^{90}/g Ca (S.U.)		
		min.	max.	moy. (4)	min.	max.	moy. (4)
Herbage (2)	juin 59	692	1014	770	93	167	130
Ray-grass d'Italie (3)	août 59	69	237	142	9,8	29	19
Trèfle violet (3)	août 59	112	368	249	20	75	51

(1) partie aérienne.
(2) vieille prairie permanente
(3) semis au printemps 59.
(4) moyenne de toutes les stations.

Importance de la rétention directe du Sr^{90} transporté par la pluie

Le tableau 3 résume les résultats obtenus à la suite d'expériences effectuées avec divers types de végétaux cultivés avec ou sans abri, en conditions naturelles.

Tableau 3

Sol (S.U.)	Nature	Végétaux		Rapport
		Exposé (S.U.)	Sous-abri (S.U.)	S.U. Vég. exp./S.U. Vég. sous-abri
19,3 ± 1,5	Laitue	18,3 ± 1,9	10,6 ± 1,6	1,7 ± 0,4
20,4 ± 2,4	Ray-grass	38,1 ± 1,7	13,6 ± 1,0	2,8 ± 0,3
	Trèfle violet	26,5 ± 1,3	7,6 ± 0,8	3,5 ± 0,5
27,2 ± 1,2	Herbage	71,7 ± 2,7	22,6 ± 1,2	3,2 ± 0,3

Quel pourcentage du Sr^{90} déposé par la pluie est ainsi fixé directement par la partie aérienne du végétal ? Le tableau 4 donne les résultats que nous avons obtenus en 1959 à la suite d'expériences effectuées en conditions naturelles.

Nous en concluons que la rétention est fonction de la nature du feuillage et aussi de la densité de la couverture végétale Des expériences de A. Morgan (11) effectuées avec du ray-grass exposé à la pluie au printemps 1959 (1 mois d'exposition et 50 mm de chute de pluie) ont montré une rétention directe variant entre 33 et 44 % du Sr^{90} déposé par la pluie. Ces résultats suggèrent que c'est le taux auquel les produits de fission sont lessivés des feuilles après leur dépôt initial qui contrôle la quantité retenue dans la partie aérienne de la plante.

Tableau 4

Nature du végétal	μc μc Sr^{90}/m^2 déposé	retenu (5)	Pourcentage de rétention
Laitue (1)	570 (3)	11,6	2,0
Ray-grass (1)	570	40,8	7,1
Trèfle Violet (1)	570	42,4	7,4
Herbage (2)	610 (4)	78,7	12,9

(1) Semis au printemps 1959, récolte fin août.

(2) Vieille prairie, récolte fin octobre.

(3) Dépôt récolté entre le 6/5/59 et 27/8/59.

(4) Dépôt récolté entre le 6/5/59 et 30/10/59.

(5) Les nombres représentent la différence entre les teneurs Sr^{90} de l'herbage exposé et de l'herbage abrité.

D'autre part A. Morgan a constaté que la rétention était la plus élevée là où le rendement en poids sec était le plus élevé, il apparaît donc que la surface foliaire est un facteur important dans la rétention directe.

Cependant le Sr^{90} lessivé des feuilles par la pluie peut être retrouvé dans la partie basale des végétaux ou dans le mat, d'où il sera plus facilement absorbé par la plante avant d'être « dilué » avec le calcium comme ce serait le cas dans le sol (12).

Ce phénomène de rétention directe a une très grande importance, il est probablement la cause du pic printanier des laits en Sr^{90}, dont il est question plus loin.

Étant donné l'ampleur de ce phénomène nous devons donc observer une relation entre la quantité Sr^{90} déposée sur chacune des stations « sunshine » et la quantité de Sr^{90} présente dans la partie aérienne des végétaux. Les résultats sont donnés au tableau 5.

Tableau 5

Station	1er Semestre 1959 dépôt $\mu\mu c$ Sr^{90}/m^2	1er Semestre 1959 herbage $\mu\mu c$ Sr^{90}/m^2	2e Semestre dépôt $\mu\mu c$ Sr^{90}/m^2	2e Semestre herbage $\mu\mu c$ Sr^{90}/m^2
I	2770	147	210	— (1)
II	2150	100	410	49,5
III	2150	173	660	1,2 (2)
IV	4290	302	992	29
V	5770	406	510	27,4
VI	2150	138	600	13
VII	2680	176	570	120

(1) récolte négligeable résultant de la sécheresse et dégâts par animaux.

(2) récolte très faible résultant de la sécheresse.

L'influence du facteur « Sol » (nature, dépôt cumulé Sr^{90}, etc.) ne doit cependant pas être négligé et lorsque les précipitations sont peu abondantes (cas du 2e semestre 1959), ce facteur reprend toute son importance.

Partition de Sr^{90} entre la partie aérienne des végétaux, l'horizon « mat » et la couche de sol sous-jacent

Dans le tableau 6 nous avons groupé une série des résultats expérimentaux qu'il est intéressant de comparer sur la base des valeurs S.U.

Tableau 6

Type d'échantillon	Station			
	I S.U.	II S.U.	IV S.U.	VII S.U.
Sol (0-15cm) (1) (3)	22,1	16,5	20,4	20,0
Sol (15-30cm) (2)	7,1	12,6	11,0	10,3
Mat (Sol) (3)	64,0	100,5	88,0	79,0
Mat (Végétal) (3)	35,8	97,5	29,0	22,6
Herbage (partie aérienne) (3)	— (4)	153	74,2	71,7

(1) L'horizon « mat » a été enlevé de la couche 0-15.
(2) Échantillon prélevé en mai 1959.
(3) Échantillon prélevé en octobre 1959.
(4) Récolte négligeable due à la sécheresse.

Nous remarquons que la partie végétale du « mat » a un taux S.U. plus bas que celui de la partie sol de l'horizon « mat », il semble donc qu'un facteur de discrimination joue à ce niveau. Nous constatons aussi que les valeurs S.U. de la partie aérienne des végétaux sont très significativement supérieures aux valeurs S.U. du « mat » végétal, ce qui constitue une preuve supplémentaire de l'importance de la rétention foliaire directe.

Des analyses faites, en 1958, en Angleterre ont montré que l'horizon « mat » contenait au moins 60 % de ce qui a été déposé par unité de surface ; en moyenne 0,3 à 2,41 % du Sr^{90} total accumulé était présent dans l'herbage (12)

Relation entre la teneur Sr^{90} de l'herbe et la teneur du sol en Ca échangeable

L'examen du tableau 7 montre qu'il n'y a pas de relation consistante entre la teneur en Sr^{90} de l'herbage et celle du Sol en Ca échangeable, cette constatation n'a rien de surprenant étant donné l'influence prépondérante de la rétention directe sur la teneur en Sr^{90} de la partie aérienne de l'herbage. D'autres chercheurs (12) ont aussi été amenés à la conclusion que Sr^{90} et Ca entrent dans la plante indépendamment et que la contamination « directe » apparaît comme l'explication la plus raisonnable sur la manière par laquelle Sr^{90} était absorbé.

Tableau 7

Station	Herbage (partie aérienne)						Sol (0-15 cm)
	$\mu\mu c$ Sr^{90}/Kg M.S.		Ca g/Kg M.S.		S.U.		Ca. échang.
	mai	octobre	mai	octobre	mai	octobre	g/Kg sol sec
I	735,5	—	7,65	—	96,1	—	1,74
II	502,6	413,0	5,4	2,7	93,0	153,0	1,24
III	721,5	119,3	4,4	6,0	164,0	19,9	0,93
IV	839,2	207,7	5,0	3,8	167,8	74,2	2,68
V	1014,8	196,0	7,1	2,2	142,9	89,0	2,80
VI	692,6	108,0	6,2	4,5	111,7	24,0	2,50
VII	881,8	430,0	6,6	6,0	132,6	22,6	0,53

Niveaux de contamination du lait

Le tableau 8 donne les moyennes des niveaux Sr^{90} observés dans le lait récolté dans 6 stations « sunshine ». Nous constatons une différence significative entre les teneurs moyennes en Sr^{90} des laits provenant de régions différentes ; d'autre part, pour une même station, nous avons observé des variations de teneur en Sr^{90} parfois importantes, il est probable que ces variations sont liées à la diversité dans l'alimentation des vaches laitières.

Du point de vue de la contamination de larges populations ce sont évidemment les moyennes annuelles (S.U.) de la diète qui importent ; pour les populations occidentales plus de 80 % du Ca de la diète provient du lait et de ses dérivés (13).

Signalons que la limite maximum permise pour l'exposition continue de larges populations à Sr90 dans l'eau potable a été fixée par le « National Committee on Radiation Protection and Measurements » à 80 micromicrocuries par litre, il est généralement admis que cette

TABLEAU 8

Échantillons de lait ($\mu\mu$c Sr^{90}/g Ca ou S.U.)

Période 1959 Trimest.	Stations					
	I (Eeklo)	II (Berlaer)	III (Tongerlo Bree)	IV (Herve)	V (Morhet)	VI (Lonzée)
1	5,80±0,81	5,30±0,77	9,65±0,84	7,60±0,73	8,23±0,79	6,52±0,84
2	8,95±0,54	8,53±0,42	5,02±0,55	9,88±0,64	8,21±0,57	6,77±0,55
3	3,89±0,55	3,70±0,59	4,89±0,60	5,94±0,62	5,12±0,59	7,21±0,64
4	4,00±0,20	5,62±0,27	6,29±0,29	5,62±0,33	6,32±0,26	7,76±0,33
Moyenne annuelle	5,66±0,52	5,54±0,52	6,44±0,57	8,01±0,58	7,14±0,55	7,06±0,59

limite est applicable au lait. La teneur moyenne annuelle en Sr^{90} des laits belges produits en 1959 atteint le dixième de la valeur maximum permise.

Le tableau 9 montre que les teneurs du lait en Sr^{90} passent par un maximum, par ailleurs la comparaison du rapport Sr^{89}/Sr^{90} dans le lait et dans la pluie suggère que, pendant la bonne saison, la contamination du lait dépend principalement de l'importance du dépôt durant le ou les 2 mois antérieurs (12).

En 1959 un pic printanier du Sr^{90} dans le lait a aussi été constaté aux U.S.A. (14).

TABLEAU 9

Moyennes mensuelles S.U. des laits des stations « Sunshine »

Période 1959	Min. observé	Max. conservé	Moy. générale
Jan.	6,21	10,02	8,05±0,85
Fév.	5,51	10,57	7,37±0,81
Mars	4,32	8,65	6,13±0,74
Avr.	5,14	14,86	8,55±0,87
Mai	8,03	10,86	9,25±0,47
Juin	3,86	9,05	7,40±0,37
Juil.	3,30	6,49	4,73±0,49
Août	1,43	9,14	6,00±0,79
Sept.	3,08	6,00	4,58±0,48
Oct.	3,51	9,49	6,09±0,26
Nov.	2,81	9,54	7,44±0,30
Dec.	4,05	9,51	6,70±0,29

Des expériences en champs, effectuées par le groupe du Dr. R.S. Russell (12), ont permis d'estimer que seulement 20 % du Sr^{90} du lait produit en Grande-Bretagne, en 1958, provenait du Sr^{90} accumulé dans le sol, le restant étant dû à la contamination directe. Or on a observé au printemps de chacune des dernières années passées, une augmentation marquée du taux de dépôt de Sr^{90} (2).

Remerciements.

Nous remercions vivement Monsieur le Professeur P. Manil, membre de la commission de Radiobiologie, pour les conseils prodigués et l'intérêt témoigné pour le programme « Sunshine ». Tous nos remerciements vont également : à Monsieur le Professeur G. Manil, de l'Institut agronomique de l'État à Gembloux, qui a bien voulu se charger des analyses pédologiques, à Monsieur Verdeyen, directeur du « Centre National de Recherches herbagères et fourragères », et à Messieurs Laloux et Navarre de l'Institut agronomique de l'État à Gembloux, pour les parcelles d'expérimentation qu'ils ont mises à notre disposition.

BIBLIOGRAPHIE

(1) Maximum permissible Amounts of Radioisotopes in the human body and maximum permissible concentration in air and Water. National Bureau of Standard. Handbook 52 (March 1953).
(2) Martell, E. A. Atmospheric Aspects of Strontium Fallout. *Science*, **129**, 3357 pp. 1197-1205 (1959).
(3) Libby, W. F. *Proc. Nat. Sc. U.S.*, **42**, 365 (1956).
(4) Martell, E. A. U.S. Atomic Energy Comm. Rept. *AECU*, 3262 (1956).
(5) Bryant, F. J. Chamberlain, A. C. Morgan, A. Spicer, G. S. *J. Nuclear Energy*, **6**, 22 (1957).
(6) Collins, W. R. and Hallden, A. U.S.A.E.C. *NYO*, 4889 (1947).
(7) Alexander, L. T., Hardy, E. P. and Hollister, H. L. Radioisotopes in soil with particular emphasis on Strontium-90. Communicati onprésentée au « Symposium on Radioisotopes in the Biosphere » tenu à Minneapolis (1959).
(8) Cline, J. F., Selders, A. A. and Hungate, E. P. Absorption of Strontium from yield plots. *H. W.*, 47500 p.p. 170-3 (1956).
(9) Alexander, L. T. Statement in « The Nature of Radioactive Fallout and its Effects on Man », Hearings before the Special Subcommittee on Radiation of the Joint Committee on Atomic Energy - May 27-29, June 3-7-1957. U.S. Government Printing Office, Washington 1957.
(10) Kurchatov, B. V. Study of the Strontium-90 content of the atmosphère, soil, Foodstuffs and human bones in the USSR. Rapport 58-03287. Moscow 1958.
(11) Morgan, A. The direct Uptake of Fission Products on Rye grass. *AERE/R* 3181 (1959).

(12) « Strontium 90 in Milk and Agricultural Materials in the United Kingdom 1958-1959 ». Agricultural Research Council Radiobiological Laboratory Rept. n° 2-1960. Her Majesty's stationery office-London.
(13) KULP, J. L. Current Sr^{90} level in Diet in United States. *Science*, **128**, 86 (1958).
(14) HARDY E. P. and KLEIN, S. Strontium Program-Quarterly summary Report. *HASL*, 69/122 (1959).

RÉSUMÉ

Le rapport présenté contient les résultats d'analyse des échantillons de sols, pluies, végétaux et laits, contaminés par le strontium -90 provenant des retombées radioactives produites par les explosions nucléaires.

Ces échantillons ont été récoltés en 1959, dans les sept stations « Sunshine » réparties en Belgique ; une brève description de ces stations est donnée.

L'analyse des précipitations atmosphériques a montré un apport de Sr^{90} variant de 2,56 à 6,28 mc/km² selon les régions.

Les valeurs extrêmes des moyennes annuelles des échantillons de lait ont été respectivement de 5,5 $\mu\mu$c Sr^{90}/g Ca et de 8,0 $\mu\mu$c Sr^{90}/g Ca ; des pics allant jusqu'à 10 $\mu\mu$c Sr^{90}/g Ca ont été observés au printemps 1959.

Les valeurs fournies par l'analyse d'échantillons de sol oscillent entre 3,1 et 100 $\mu\mu$c Sr^{90}/g Ca selon la nature du sol et la profondeur d'échantillonnage.

Les plantes fourragères accusent des teneurs en Sr^{90} très variables selon l'espèce végétale et son âge ; l'influence de la rétention foliaire directe est discutée.

The fate of Sr^{90} in soils and plants : analysis of the 1959 results

SUMMARY

This paper reports the analytical results obtained with soil, rain, plant and milk contaminated by Sr^{90} of the Fallout produced by the nuclear explosions.

The samples were collected in 1959 in the seven « Sunshine » stations distributed over the country ; a brief description of those stations is given.

The analysis of rainfall has shown a Sr^{90} fall-out varying from 2.56 to 6.28 mc/km² according to the locality.

The extreme values obtained for the yearly average of milk samples were 5,5 $\mu\mu$c Sr^{90}/g Ca and 8,0 $\mu\mu$c Sr^{90}/g Ca respectively ; peaks reaching 10 $\mu\mu$c Sr^{90}/g Ca were observed during the Spring in 1959.

The figures obtained from the analysis of soil samples vary between 3,1 and 100 $\mu\mu$c Sr^{90}/g Ca according to the type of soil and the depth of sampling.

Fodder crops show extremely variable Sr^{90} contents according to the type and age of the crop ; the influence of direct foliar retention will be discussed

Sr^{90} in Böden und Pflanzen : analyse der Resultate des Jahres 1959

ZUSAMMENFASSUNG

Der bericht enthält die Resultate der Analyse von Böden-, Regen-, Pflanzen- und Milchproben, die von niedergeschlagenen radioaktiven Produkten nach Kern-Explosionen herrühren.

Die Proben wurden im Jahre 1959 in den in Belgien verteilt liegenden 7 « Sunshine » -Stationen eingesammelt ; es wird eine kurze Beschreibung dieser Stationen gegeben.

Die Analyse der atmosphärischen Niederschläge zeigte eine Sr^{90}-Menge von 2,56 bis 6,28 mC/km², je nach der Region.

Die extremen Werte der Jahresmittel der Milchproben geben entsprechend 5,5 $\mu\mu$C Sr^{90}/gCa und 8,0 $\mu\mu$C Sr^{90}/g Ca ; Gipfel von 10 $\mu\mu$C Sr^{90}/g Ca hat man im Frühling 1959 beobachtet.

Die Analysenwerte der Bodenproben schwanken zwischen 3,1 und 100$\mu\mu$ C Sr^{90}/gCa, je nach der Beschaffenheit des Bodens und der Tiefe der Probenentnahme.

Die Futterpflanzen zeigten je nach Art und Alter der Plfanzen verschiedene Grössen an Sr^{90}-Gehalt. Der Einfluss der direkten Retension durch die Blätter wird diskutiert.

Conservation des denrées alimentaires par les radiations ionisantes

par Pierre VIDAL
Gérant de la Société « Conservatome » (France)

J'ai le privilège de prendre le premier la parole ce matin et d'ouvrir cette journée consacrée à l'utilisation des rayonnements atomiques pour la conservation des denrées alimentaires. Plusieurs conférenciers qui me succèderont ici, vous entretiendront de points particuliers relatifs à ce procédé. Aussi, ai-je jugé préférable de me borner, pour ma part, à vous parler à bâtons rompus de quelques aspects technologiques de cette nouvelle technique et, plus spécialement, de l'état d'avancement des travaux actuels.

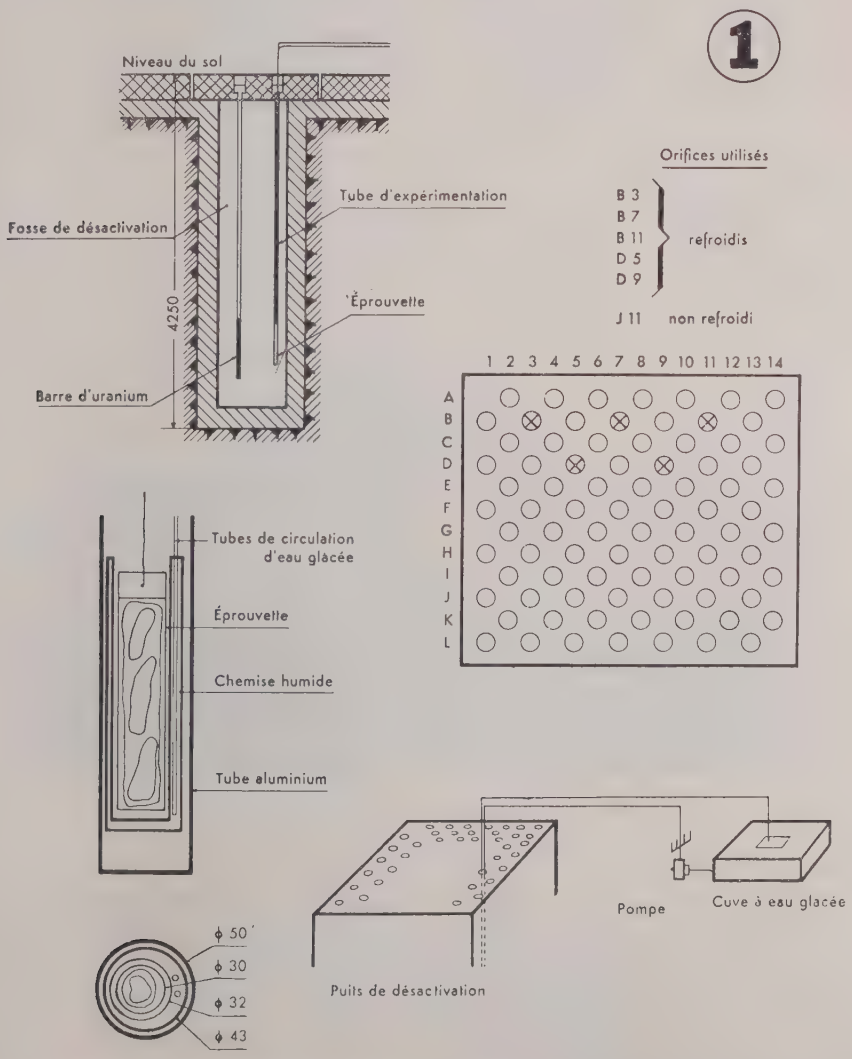
Des centaines de millions d'êtres humains sont sous-alimentés et, chaque année, des dizaines de tonnes de denrées alimentaires diverses sont perdues, faute de pouvoir être conservées et distribuées dans les régions éloignées.

Mes activités professionnelles, orientées essentiellement vers la conservation des denrées alimentaires, mon goût personnel pour tout ce qui a trait à l'énergie atomique, m'ont conduit, il y a une dizaine d'années à me pencher sur le problème de l'utilisation des radiations ionisantes. Les idées émises à cette époque ont été accueillies avec beaucoup de scepticisme. C'est seulement auprès des dirigeants du Commissariat à l'Énergie Atomique français, et en particulier auprès des dirigeants du Centre d'Études Nucléaires de SACLAY, que j'ai trouvé une grande compréhension : grâce à eux, j'ai pu alors entreprendre des recherches, avec des moyens cependant très limités.

C'est tout d'abord à la Pile E.L. 2 de SACLAY (cliché N° 1) dans le puits de désactivation des barres d'uranium, que furent entreprises les premières recherches : c'était l'époque héroïque (les moyens de travail étant assez archaïques) et il faut bien le dire, les premiers résultats furent loin d'être encourageants. Mais, nous ne nous sommes pas découragés et avons continué nos travaux, ceux-ci augmentant chaque jour d'intérêt.

J'ai pu intéresser à ces travaux une vingtaine d'industriels français, appartenant à différentes branches de l'industrie alimentaire. Ils ont bien voulu m'aider à créer la Société « CONSERVATOME ». Je leur suis particulièrement reconnaissant et je leur dois beaucoup pour leur esprit d'entreprise et leur dynamisme.

Les espoirs placés dans ces recherches n'ont pas été vains. Les résultats obtenus, en effet, se sont révélés satisfaisants et pleins d'enseignements dans beaucoup de domaines. Ils ont permis d'envisager la réalisation d'un centre de recherches important.



Malheureusement ce genre d'installation nécessite des investissements élevés. Le cobalt 60, qui sert à l'équipement de ces appareillages, est d'un prix prohibitif et ne se trouve pas en quantités importantes dans le commerce. Les spécialistes aussi sont rares. C'est pour ces raisons

que j'ai créé le Centre Lyonnais d'Applications atomiques qui groupe, non seulement Conservatome, que j'ai l'honneur de présenter ici, mais également un grand nombre de Sociétés importantes de l'industrie française (cliché n° 2).

Le concours de cet ensemble de Sociétés a permis la construction d'un bloc d'irradiation gamma à Cobalt 60 : d'autres installations d'irradiation verront le jour par la suite.

En Grande Bretagne et aux États Unis, des recherches furent entreprises vers la même époque.

Fig. 2. — Vue d'ensemble du bloc d'irradiation du Centre Lyonnais d'Applications Atomiques à Dagneux (Ain)

Si, dans les premiers temps des recherches, nous nous sommes heurtés a beaucoup d'incompréhension, il n'en est plus du tout de même maintenant· Les choses vont vite et si, il y a une dizaine d'années, nous étions souvent pessimistes sur l'avenir, c'est actuellement d'une façon résolument optimiste (quoique raisonnée) que nous poursuivons et amplifions nos recherches.

Il faut bien le dire, le climat moral n'est pas toujours très enthousiaste, très satisfaisant. Des informations souvent fantaisistes répandues par la presse, ne rendent pas la tâche aisée. Récemment, vous avez appris que les savants américains de l'U.S. Army auraient abandonné tout

espoir d'utiliser les rayonnements et décidé même de suspendre leur programme de recherches. Il n'en est rien. La question a simplement été repensée et l'U.S. Army et l'A.E.C. ont mis au point de nouveaux programmes très importants. D'ores et déjà, nous tenons à affirmer que le principe de l'irradiation des denrées périssables n'est nullement en cause et ne l'a jamais été. Son avenir est, au contraire, plus que jamais plein de promesses. Il n'est besoin de donner pour preuve, que les nombreux résultats définitivement acquis et dès maintenant exploitables.

L'orientation à donner aux travaux, dans les différents pays du monde, est une simple question de bon sens. Il n'est pas question évidemment de vouloir faire de l'utilisation des rayonnements ionisants, une panacée : il faut les utiliser raisonnablement, vers des buts bien déterminés qui, maintenant, sont suffisamment connus.

Utilisation des radiations ionisantes

Les rayonnements ionisants doivent être utilisés en fonction des buts à atteindre ; les connaissances déjà acquises en ce domaine sont suffisamment nombreuses pour le permettre. Il existe des doses maxima que l'on ne doit pas dépasser sous peine de modifier le produit, exactement comme cela se passerait si l'on faisait cuire trop longtemps un produit carné par exemple, par les procédés culinaires habituels. Il n'est pas question non plus de vouloir obtenir des résultats satisfaisants dans tous les domaines de l'alimentation. En ce qui concerne la conservation des denrées alimentaires, on est actuellement fixé avec suffisamment de clarté sur ce que l'on peut obtenir et sur ce qui est d'ores et déjà exploitable.

Les applications pratiques de ces rayonnements sont de plusieurs ordres : l'inhibition de la germination des tubercules et de la montée en végétation des bulbes alimentaires en cours de stockage, la désinsectisation des denrées alimentaires et la destruction des parasites (Helminthes par exemple) qui infestent certaines viandes. La radiopasteurisation ensuite des denrées alimentaires, méthodes destinées à prolonger leur durée de conservation sans toutefois les stériliser. La radiostérilisation, enfin, qui conduit à leur stérilisation complète.

Sources d'irradiation

Faute de temps, nous ne pourrons trop nous étendre sur cette question. Nous dirons simplement quelques mots des différentes sources d'irradiation existantes et des possibilités de leur utilisation.

1) Les neutrons

Les neutrons ne sont pas utilisés, en raison de la radio-activité induite qu'ils peuvent engendrer. En l'état actuel de nos connaissances, il convient d'éviter toute production de radio-activité induite.

2) Les rayonnements bêta

Produits par des accélérateurs d'électrons (Van de Graff, linéaires, transformateurs de résonance etc...), ils sont utilisés à l'état de faisceaux d'électrons accélérés. Il convient, dans l'état actuel de nos connaissances, de ne pas utiliser des accélérateurs d'électrons d'un niveau d'énergie supérieur à dix MeV, en raison de la radio-activité induite produite. Bien que peu importante et que la période des corps radioactifs produits soit faible, il est préférable de l'éviter. Cette radio-activité peut également se produire entre 5 et 10 MeV mais alors, elle ne se rencontre pas dans les aliments : tout au plus, en a-t-on détecté dans l'étain des boîtes de conserve.

Il est pratiquement admis que la pénétration de ces rayonnements est sensiblement de 1/3 cm par MeV. Leur action est très irrégulière. Le faisceau peut être continu ou discontinu avec des impulsions de 10^{-6} secondes et l'on ne peut encore connaître l'influence de ce fait sur les résultats.

C'est pour ces raisons, et pour des raisons d'ordre technique aussi, que nous avons abandonné l'utilisation des accélérateurs d'électrons pour nos recherches.

Sur le plan industriel, il est certain que, dans quelques cas, les accélérateurs d'électrons auront une application (traitement des produits de faible épaisseur, traitement de surface). D'autant plus que ces appareils présentent des avantages (grande sécurité d'emploi pour le personnel, souplesse dans la radio-exposition, protection peu coûteuse, rendement etc.).

3) Les rayons X

Ils ont été beaucoup utilisés à l'origine, et le sont encore avec profit pour certains essais, mais, à notre sens, ils ne peuvent être employés dans la pratique industrielle car leur production est trop onéreuse pour un faible rendement.

4) Les rayonnements gamma

Les rayonnements gamma proviennent de différentes sources.

a) ils peuvent provenir des sous-produits de fusion nucléaire en cours de désactivation. Le Commissariat à l'Énergie Atomique Français

a réalisé, à côté du réacteur E.L. 3, une casemate d'irradiation à température dirigée. Cette casemate est dotée d'un convoyeur et utilise les barres d'uranium du réacteur avant leur expédition à l'usine de traitement.

b) On peut également envisager de faire passer dans le réacteur une boucle qui contient une solution accumulant une forte radioactivité, avec une période de l'ordre de 2 à 4 heures. Cette boucle, à sa sortie du réacteur, servirait de source de rayonnement.

c) Les rayonnements gamma, provenant des radio-isotopes, sont actuellement les plus utilisés. Ceux du Cobalt 60, en particulier, qui émet deux rayonnements gamma de 1,17 et 1,33 MeV. Ceux également du Cesium 137 (rayonnements gamma de 0,66 et Béta de 0,52 et 1,17 MeV). Mais le Césium 137 présente des difficultés d'utilisation pratique. Des essais sont actuellement en cours pour son emploi aux États Unis, en Grande Bretagne et en U.R.S.S.

L'avantage du rayonnement gamma réside dans le fait qu'en utilisant le Cobalt 60 ou le Césium 137, on ne risque aucune radio-activité induite. On peut d'autre part traiter des produits d'épaisseur importante et l'action de ce rayonnement est sensiblement égale partout. C'est une garantie de sécurité pour les résultats obtenus.

Il existe actuellement de nombreux irradiateurs en fonctionnement : ils sont à Cobalt 60 et possèdent des charges de quelques centaines de curies. Il n'y a, à notre connaissance, que deux installations importantes en cours d'exploitation : celle de WANTAGE en Grande Bretagne (150.000 curies) et le CENTRE LYONNAIS D'APPLICATIONS ATOMIQUES près de LYON. Cette dernière démarre avec 3.000 curies, mais pourra fonctionner avec plusieurs centaines de milliers de curies de Cobalt 60 (Voir Fig. n° 2).

Conditions d'irradiation des denrées

Divers facteurs peuvent influencer les résultats obtenus par l'irradiation (selon la plus ou moins grande rapidité d'application des radiations après la récolte des produits ou après l'abattage des animaux).

Les produits à traiter doivent être d'excellente qualité et, si possible, ne pas avoir commencé à évoluer (période de dormance pour les bulbes alimentaires par exemple).

L'intensité de la dose appliquée a également son importance.

Résultats obtenus

Après ce très court rappel de quelques données, nous nous proposons de vous exposer succintement les résultats acquis dans le domaine de la conservation des denrées alimentaires par les rayonnements ionisants.

En partant de doses de quelques milliers de rads (nous vous rappelons que le rad est la dose d'irradiation correspondant à une absorption de 100 ergs par gramme de substance), pour aller jusqu'à des doses de quelques millions de rads, nous pouvons obtenir successivement :

1. l'inhibition de la germination des tubercules et bulbes alimentaires (doses variant de 6.000 à 12.000 rads suivant le produit et le but recherché).

2. le traitement des denrées alimentaires envahies par des insectes et le traitement des viandes infestées par des vers parasites (doses variant de 10.000 à 300.000 rads).

3. la radiopasteurisation « froide » des denrées alimentaires. Elle est appelée froide car l'action est la même qu'avec la pasteurisation mais sans élévation notoire de la température du produit traité (doses de 100.000 à 800.000 rads).

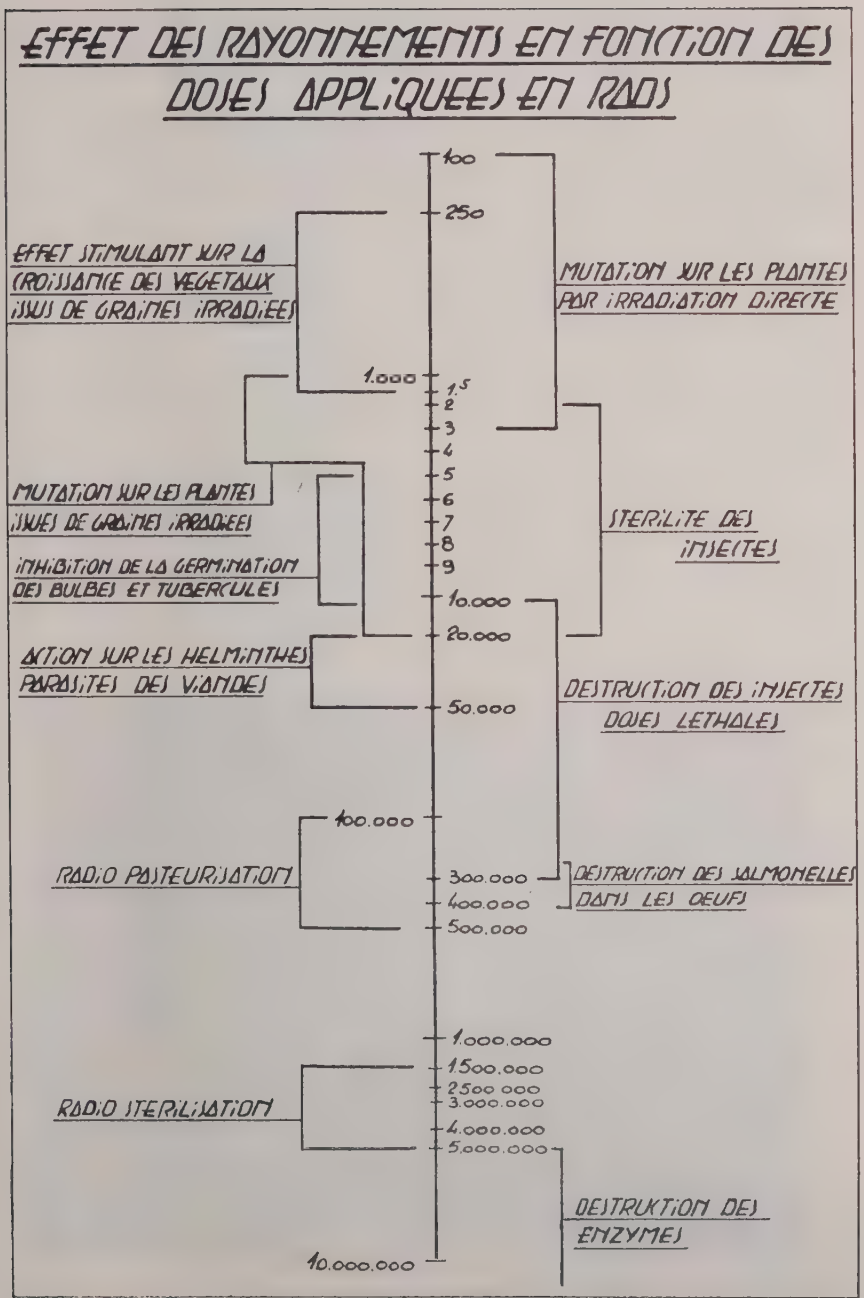
4. la radiostérilisation, appelée également « froide » pour la même raison, à des doses variant de 1,5 à 5 mégarads. Dans cette bande, encore mal connue, le produit est stérilisé.

Le tableau ci-joint (p. 793) vous résume ces possibilités. Les données de ce tableau sont purement indicatives, les limites d'action, dans beaucoup de cas, n'étant pas encore connues avec certitude. Il est évident, que des modifications interviendront dans ce tableau.

Il y a lieu de signaler en passant qu'avec de faibles doses (de 100 rads à quelques milliers de rads) nos travaux et ceux d'autres chercheurs montrent que l'on obtient un effet stimulant sur les plantes et graines et l'apparition de mutations. Je ne m'étendrai pas sur cette question qui sort des limites de mon sujet.

Inhibition de la germination des tubercules

Il a été effectué de nombreuses recherches en ce domaine et le problème de l'irradiation des tubercules commence à être très bien connu. Comme beaucoup de produits agricoles, les pommes de terre, les aulx et les oignons sont récoltés à des périodes bien déterminées, se conservent un certain temps, puis disparaissent du marché. La dessication, la réfrigération et la plus grande vitesse des transports ont permis


EFFET DES RAYONNEMENTS EN FONCTION DES DOSES APPLIQUEES EN RADS
100
250
EFFET STIMULANT SUR LA CROISSANCE DES VEGETAUX ISSUS DE GRAINES IRRADIEES
MUTATION SUR LES PLANTES PAR IRRADIATION DIRECTE
1.000
1,5
2
3
4
5
6
7
8
9
MUTATION SUR LES PLANTES ISSUES DE GRAINES IRRADIEES
STERILITE DES INSECTES
INHIBITION DE LA GERMINATION DES BULBES ET TUBERCULES
10.000
20.000
ACTION SUR LES HELMINTHES PARASITES DES VIANDES
DESTRUCTION DES INSECTES DOSES LETHALES
50.000
100.000
RADIO PASTEURISATION
300.000
400.000
500.000
DESTRUCTION DES SALMONELLES DANS LES OEUFS
1.000.000
1.500.000
2.500.000
3.000.000
4.000.000
5.000.000
RADIO STERILISATION
DESTRUKTION DES ENZYMES
10.000.000

de limiter en partie, les périodes pendant lesquelles ces produits faisaient défaut. On peut cependant dire que les résultats obtenus sont encore insuffisants et que le coût du produit conservé aussi bien que du primeur, est élevé.

La réduction de la période de consommation, les pertes enregistrées proviennent (ou sont la conséquence) la plupart du temps de l'évolution du tubercule ou du bulbe alimentaire. Cette évolution se manifeste avant tout par la germination. Jusqu'à présent il n'existait pas de procédé simple et vraiment efficace pour l'empêcher.

En l'état actuel de nos connaissances, l'utilisation du rayonnement gamma semble apporter une solution à ce problème. La Société Conservatome a réalisé un très important travail de recherches en ce domaine et en voici les résultats :

1) Pommes de terres

Dès l'application d'une dose de 5.000 rads, la germination des pommes de terre est fortement ralentie : elle peut être considérée comme arrêtée pratiquement à partir de 7.500 rads. Vers 15.000 rads, la conservation semble moins bonne. Il apparaît que la dose de 10.000 rads soit à la fois la plus efficace et la plus indiquée industriellement pour assurer une bonne conservation (Fig. 3).

Fig. 3 — Pommes de terre après 16 mois de conservation à 10°C.
A gauche témoin ; à droite traitées à 10.000 Rads.

On obtient d'excellents résultats à la température ambiante, mais il est impossible à la longue d'éviter la dessication. Il vaut mieux stocker à ue température inférieure à 12°C, avec une hygrométrie avoisinant 80-85 %.

— l'irradiation ne semble pas avoir une action trop importante sur le phénomène de noircissement des pommes de terre pelées et coupées. Ce phénomène n'intervient pas avant 5 heures ce qui est un délai suffisant.

— les pommes de terre, grâce à la résistance mécanique de l'épiderme, conservent pendant de nombreux mois, un aspect de fraîcheur identique à celui des tubercules récemment récoltés.

— les pertes de poids, enfin, sont très limitées. Il y a très peu de perte par détérioration : leur texture subit d'infimes modifications et ils sont excellents à déguster même après de nombreux mois de conservation.

2) Oignons - Aulx - Échalotes

Actuellement, il existe deux moyens de les conserver :

— soit de les stocker dans un endroit sec (grenier) à température modérée.

— soit de les stocker en chambre froide.

Ces deux procédés n'arrêtent pas complètement les pertes dues à la montée en végétation (dénommée improprement « germination ») et leur action demeure, en tout état de cause, limitée dans le temps.

Il en va tout autrement avec l'irradiation qui doit être appliquée à des doses de 10.000 à 12.400 rads (Fig. 4).

Il faut noter cependant, et ce point particulier est beaucoup plus important pour les oignons et les aulx que pour les pommes de terre, que le moment où est pratiqué l'irradiation a une très grande importance. Si la dose est appliquée dans le mois qui suit la récolte, l'inhibition de la germination est totale et les bulbes peuvent être conservés jusqu'à un an. Mais si la dose est appliquée lorsque la plantule commence à se développer, ou lorsque le bulbe est entré en végétation, elle se révèle insuffisante. Pour obtenir un résultat il faudrait alors appliquer des doses 5 à 6 fois plus fortes

Mais en irradiant dans les jours qui suivent la récolte (moins de 1 mois), et avec des conditions adéquates de stockage, une dose de 12.000 rads suffit à inhiber la montée en germination des bulbes.

3) Désinsectisation

La lutte contre les insectes qui infestent les produits alimentaires stockés, les végétaux en culture ou même les animaux, se trouve facilitée par l'emploi des rayonnements ionisants.

Deux possibilités sont offertes :

1. Soit l'irradiation à faibles doses (5.000 à 7.000 rads) d'insectes adultes que l'on a élevés en captivité et qui sont lâchés dans la nature après irradiation. Devenus stériles, ils provoquent des accouplements inféconds qui, à plus ou moins longue échéance, deviennent la cause de l'extinction de l'espèce. Cette technique a été appliquée avec succès dans l'Ile de Curacao et en Floride sur la « Srew Worm Fly » qui occasionne tant de dégâts dans les élevages de bovins.

Fig. 4. — Oignons après 1 an de conservation à + 10° C.
A gauche témoin ; à droite traités à 10.000 Rads.

Mais cette technique ne peut pas toujours être appliquée car plusieurs conditions doivent être réunies. Des recherches se poursuivent cependant et l'on espère pouvoir l'employer dans la lutte contre les moustiques.

2. Soit l'irradiation directe des aliments infestés par les insectes. Cette méthode offre également quelques difficultés :

— l'effet d'une même dose de rayonnement varie selon que l'insecte à irradier se trouve à l'état d'œuf, de larve ou à l'état adulte. elle varie également selon l'âge de l'insecte adulte (il résiste mieux à une même dose à 1 jour par ex. qu'à 3 ou 4 jours).
— l'effet des rayonnements varie considérablement selon l'espèce considérée et selon les conditions de température, etc.
— il est souvent plus intéressant, du point de vue technologique, d'irradier l'insecte à faibles doses pour le rendre stérile, car pour le tuer, il faudrait des doses bien supérieures.

Il est possible également d'appliquer des doses intermédiaires qui occasionnent la mort de l'insecte dans un délai plus ou moins long.

Dans l'ensemble, on ne connaît pas encore parfaitement les doses minima suffisantes pour rendre stériles les insectes alors que l'on connaît avec assez de précisions les doses nécessaires pour les tuer.

Voici pour quelques parasites insectes les doses léthales approximatives :

bruche des haricots (*Acanthoscelidzs obtectus*) Fig. 5

œufs	1.000 rads
larves	1.500 »
nymphes	3.000 »
adultes	20.000 »

charançon des grains (*Sitophilus granarius*)

œufs-larve	10.000 rads
adultes	20.000 rads

mouche des fruits (*Drosophila melanogaster*)

œufs	1.000 rads
larves	5.000 »
nymphes	12.000 »
adultes	200.000 »

Vous pouvez donc constater combien les doses efficaces varient. Il faudra donc déterminer, pour chaque insecte, à quel stade de son développement il conviendra d'agir pour obtenir les meilleurs rendements du point de vue technologique.

4) Destruction des vers parasites des viandes et autres produits alimentaires

Les remarques que nous venons de faire, concernant l'influence de l'âge et du stade de développement des insectes sur l'action des rayonnements, sont valables également pour les vers qui parasitent les viandes. On considère actuellement que l'on peut détruire complètement la trichine, à tous les stades de son développement, en irradiant les car-

casses de porc trichinées à la dose de 50.000 rads. Le *Toenia solium* du porc et le *Toenia saginata* du bœuf exigeraient les doses très variables de rayonnement selon leur stade de développement (les avis sont encore très partagés sur ces doses).

Fig. 5 — Haricots. A gauche infesté par les bruches après 6 mois de conservation. A droite irradié à 20.000 Rads.

Le *Fasciola hepatica* (agent de la douve du mouton) peut être détruit par l'irradiation à une dose de l'ordre de 30.000 rads, il est également dangereux à l'état de cercaire dans les salades et le cresson. Jusqu'à présent, on ne disposait que de la cuisson pour lutter contre ce parasite.

Les *Ascaris* peuvent être détruits à la dose de 5.000 rads (œufs) et de 40.000 rads (adultes). Mais d'une façon générale, on ne connaît qu'imparfaitement les doses minima léthales pour détruire les vers, exception faite du *Trichinella spiralis*.

On étudie également les possibilités de destruction de vers parasites qui vivent dans les crustacés et les coquillages et dont certaines espèces sont parasites de l'homme.

5) Action des rayonnements sur les microorganismes

La résistance des microorganismes aux radiations ionisantes est extrêmement variable, pouvant aller de quelques dizaines de milliers de rads pour certaines espèces à plusieurs millions pour d'autres. Dans l'état actuel de nos connaissances, il semble bien que l'espèce et l'âge des microorganismes, ainsi que le milieu, aient une influence. La réponse biologique d'une espèce considérée sera différente selon que le microbe se trouvera vivant ou à l'état sporulé. Enfin, les microbes peuvent être rendus impropres à la multiplication par une dose de rayonnement insuffisante pour les tuer.

L'action des radiations ionisantes sur les microorganismes est de deux ordres :

1. Radiopasteurisation, c'est à dire prolongation de la durée de conservation des aliments par l'application de doses de rayonnements comprises entre 10.000/et 1 million de rads.

2. Radiostérilisation que l'on peut obtenir par l'application de doses supérieures à 1 million de rads. On considère que la stérilisation est totale, pour la plupart des germes pathogènes ou de la putréfaction, ainsi que pour de nombreuses espèces de moisissures, à partir de 2,5 millions de rads. Toutefois, certains microbes sporulés, des levures et des moisissures semblent exiger des doses plus élevées : ce serait le cas de *Clostridium botulinum* qui ne serait détruit, à l'état sporulé, qu'à la dose de 4,8 mégarads. Mais il est vraisemblable que le perfectionnement des techniques d'irradiation, l'emploi conjugué d'autres procédés de conservation avec les rayonnements (qu'il s'agisse de salage, fumage, chaleur, antibiotiques, congélation, réfrigération ou haute fréquence) permettront d'abaisser considérablement les doses nécessaires pour détruire tous les germes présents.

A noter également que l'action des rayonnements sur les microorganismes varie considérablement en fonction du pH de l'aliment irradié.

A. *Radiopasteurisation*

Dans la gamme des doses inférieures à 200.000 rads, on peut obtenir la prolongation de la durée de conservation de nombreux produits alimentaires sous le régime du froid, à des températures comprises entre 2 et 10° C.

a) *Fruits frais.* La plupart des fruits irradiés à la dose de 150.000 rads peuvent être conservés beaucoup plus longtemps que les fruits non traités. Nous considérons, d'après nos travaux, qu'à la température de + 4° C et avec une humidité relative de 85 % :

— les framboises peuvent être conservées 8 jours (au lieu de 48 heures)
— les fraises : 20 jours (au lieu de 4) (Fig. 6)
— les pêches : 20 jours (au lieu de 5) (Fig. 7)
— les abricots : 30 jours (au lieu de 15) (Fig. 8)

Les autres fruits répondent différemment ; les études se poursuivent, mais les résultats sont variables et ne se caractérisent pas par la même netteté.

FIG. 6. — Fraises radiopasteurisées après 24 jours de conservation à + 4°C.
A gauche témoin ; à droite traitées à 150.000 Rads.

On peut dire cependant que, d'une façon générale, les fruits frais ne supportent pas une dose de rayonnement supérieure à 250.000 rads. Au-delà de cette dose, ils présentent un brunissement accentué et un ramollissement : ils paraîssent blets.

b) *Produits de la mer.* Quoique les essais de radiopasteurisation du poisson frais n'aient pas encore eu lieu sur une grande échelle, on peut affirmer d'ores et déjà que des doses de rayonnement de l'ordre de 250.000 à 300.000 rads se sont révélées efficaces pour prolonger leur durée de conservation de plusieurs jours, voire même de plusieurs

Fig. 7 — Pêches radiopasteurisées à 150.000 Rads, à droite.
A gauche, témoin après 15 jours de conservation à + 4° C.

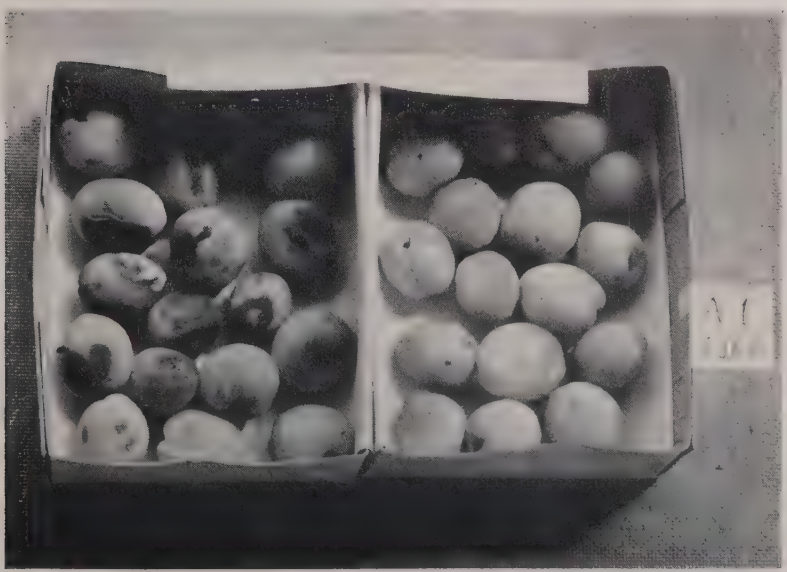


Fig. 8 — Abricots radiopasteurisés à 150.000 Rads, à droite.
A gauche, témoin après 3 semaines de conservation à + 4° C.

semaines. Malheureusement, il faudrait pouvoir irradier le poisson frais sur les lieux même de la pêche, ce qui n'est guère possible actuellement.

Car c'est aussitôt après la capture que devrait être effectuée la radiopasteurisation des poissons et des autres produits de la mer pour être efficace.

c) *Viandes.* Le problème est du même ordre que pour les poissons quoique des résultats intéressants aient été publiés selon lesquels des carcasses de porc et des quartiers de bœufs irradiés à quelques centaines de milliers de rads, se seraient conservés un mois, à des températures de plusieurs degrés centigrades.

Il n'est guère possible d'être affirmatif tant que l'on n'aura pas eu la possibilité d'irradier des carcasses entières d'animaux de boucherie, immédiatement à la sortie des chaînes d'abattage. Le transport des abattoirs aux centres d'essais de découpage, rendent les résultats très aléatoires. Mais des perspectives intéressantes sont ouvertes. Les résultats effectifs ne dépendent que des moyens qui seront mis en œuvre.

Là aussi, d'autres procédés de conservation pourront être adjoints à l'irradiation, et en particulier les antibiotiques injectés « ante mortem » aux animaux de boucherie. Nous pensons que la réfrigération et la radiopasteurisation à 700.000 rads permettra d'accroître dans des conditions satisfaisantes la durée de conservation des viandes.

d) *Destruction des microbes pathogènes contenus dans les oeufs cassés congelés.* Certains lots d'œufs congelés, en provenance principalement des pays asiatiques, renferment souvent des germes pathogènes (salmonelles, colibacilles). Les œufs de toute provenance sont souvent souillés de *Pseudomonas* responsables de la maladie des œufs « paillés ». La Société Conservatome s'est intéressée à ce problème et a effectué avec les services vétérinaires de la Préfecture de la Seine, une étude importante sur cinq espèces de Salmonelles (*S. anatum - S. pullorum - S. meleagridis - S. enteritidis et S. typhi murium*), ainsi que sur *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli* etc...

De cette étude publiée dans le Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, il ressort qu'une dose de 375.000 rads permet d'améliorer considérablement la qualité bactériologique des œufs congelés, en détruisant pratiquement tous les germes pathogènes et la plupart des germes de putréfaction. Étant donné la grande consommation d'œufs cassés congelés qui est faite par les biscuiteries, les pâtisseries industrielles et l'industrie des pâtes alimentaires, on conçoit aisément l'importance de tels résultats.

e) *Stérilisation complémentaire des jambons cuits*

C'est un exemple intéressant de la possibilité d'obtenir des résultats probants par l'action combinée de plusieurs procédés de conservation : ici le salage, la précuisson et l'irradiation.

Actuellement, les jambons salés et cuits ne peuvent être conservés plus de 3 ou 4 mois, et encore convient-il que cette conservation soit effectuée à des températures inférieures à + 10°C. Il ne s'agit pas là de conserves véritables mais de semi-conserves. Nous avons songé à appliquer des doses de rayonnements relativement faibles (comprises entre 250 et 2.000.000 rads) à des jambons salés et cuits.

Les résultats obtenus ont été particulièrement satisfaisants. Nous avons actuellement des échantillons ayant près de 2 ans d'âge (en boîtes de 500 gr) et qui sont parfaitement conservés à la température ambiante. Il s'agit là d'un résultat excessivement prometteur et intéressant.

B. *Radiostérilisation*

Il est techniquement possible de stériliser parfaitement avec des doses de rayonnement comprises entre 2,5 et 5 mégarads. C'est effectivement déjà ce qui se passe dans la pratique industrielle aux U.S.A. et en Grande-Bretagne, où l'on vend dans le commerce du matériel chirurgical (sondes, catguts etc...) stérilisé par irradiation gamma ou béta. Ce matériel est stérilisé à la dose de 2,5 mégarads.

Or, si aux doses inférieures à 500.000 rads, on ne constate généralement aucune modification de goût ou d'odeur des produits traités, il n'en est plus de même pour certains produits alimentaires au delà de 1 mégarad. Il n'est pas douteux que l'amélioration des techniques de traitement, l'abaissement des doses, la conjugaison de plusieurs procédés de traitement doit pouvoir permettre, dans la plupart des cas, la disparition de cet inconvénient.

D'ores et déjà, cependant, il est possible de stériliser par irradiation de nombreux aliments sans modifications sensibles d'odeur ou de goût. Il en est ainsi pour certains produits de la mer par exemple.

a) *Produits de la mer*. Des premiers essais effectués sur des silures (poissons-chats), il ressort que la saveur et la couleur restent normales mais que l'odeur spécifique de poisson tend à disparaître dès 500.000 rads. Le cabillaud et ses diverses préparations (en particulier les beignets), seraient parfaitement stérilisés sans modifications de goût, d'odeur ou d'aspect. Il faut dépasser 2 mégarads pour commencer à observer de très faibles modifications d'odeur des beignets de cabillaud irradié.

La chair de crabe peut être stérilisée par irradiation au-delà de 2 mégarads sans aucune modification de goût ou d'odeur. Seule une très légère décoloration de la chair des pattes se manifeste parfois.

Les filets de flet supportent parfaitement, et sans modification, des doses élevées de rayonnements.

L'églefin supporterait également de fortes doses de rayonnement (plus de 6 mégarads) sans modifications décelables, qu'il s'agisse de la saveur, de la texture ou de l'aspect. Au-delà de 6 mégarads, on note simplement une très légère odeur qui n'est pas désagréable. Les auteurs ne sont pas tous d'accord d'ailleurs : certains ont signalé que certains échantillons présentaient une modification d'odeur à partir de 2 mégarads.

Les filets de flétan sont parfaitement stérilisés dès 2 mégarads sans modification d'aucune sorte.

Le maquereau, à ces mêmes doses, prend une légère saveur amère et un peu métallique.

(On a signalé qu'au-delà de un mois de conservation, le poisson irradié commencerait à rancir. Ce rancissement est atténué lorsque le poisson est irradié sous vide).

La perche de mer, irradiée à des doses de l'ordre de 3 mégarads se conserve parfaitement à la température ambiante sans modification. Les huîtres sont parmi les premiers produits stérilisés avec succès par irradiation, sans modification décelable, jusqu'à 3 mégarads.

Le labre (goujon de mer), traité à trois mégarads également, pourrait se conserver trois mois à la température ambiante.

Le saumon de rivière se stériliserait parfaitement par irradiation si sa chair n'était pas décolorée à 90 % dès la dose de 500.000 rads.

Les sardines seraient parfaitement stérilisées dès 2 mégarads. On observerait cependant une légère décoloration de la chair, et un certain affadissement de la saveur.

Les coquilles Saint-Jacques et autres mollusques sont parfaitement stérilisables par les rayonnements sans aucune modification.

Les crevettes supportent bien la stérilisation, si l'on excepte une certaine décoloration des pigments rouges.

Les soles et les filets de soles seraient également stérilisés sans modification de goût, d'odeur ou de texture, à des doses de l'ordre de 2 mégarads.

Le thon, enfin, peut supporter l'énorme dose de 7 à 8 mégarads, en restant tout à fait acceptable.

En résumé, un certain nombre de produits de la mer peuvent être stérilisés par irradiation à l'état cru et frais. Les modifications de goût et d'odeur, quand elles existent, sont peu décelables. Les modifications d'aspect et de texture sont pratiquement inexistantes. A noter que dans certains cas, il peut se produire une décoloration des pigments rouges des crustacés et de la chair de certains poissons.

Sur les poissons gras, comme le hareng ou le sprat, les résultats obtenus sont parfois moins satisfaisants. A certaines doses, quelques poissons à chair grasse auraient tendance à prendre une odeur et saveur d'huile de foie de morue.

b) *Viandes crues et cuites.* Tous les produits carnés (viandes de boucherie, porc, mouton, volailles, gibiers) peuvent être pratiquement stérilisés par irradiation dès la dose de 2,5 mégarads. Mais les produits carnés crus tendent à présenter une odeur et une saveur particulière très caractéristique des produits irradiés : leur valeur alimentaire n'en reste pas moins entière d'ailleurs et aucune modification chimique n'est pratiquement détectable. Ces modifications d'odeur ou de saveur disparaîssent généralement après cuisson.

Il sera certainement possible d'améliorer le procédé pour faire disparaître cet inconvénient, soit en modifiant les conditions d'irradiation, soit en changeant la nature de l'emballage. De nombreuses recherches seront encore nécessaires, mais d'ores et déjà il apparaît que la radiostérilisation des produits carnés crus est un procédé particulièrement intéressant et efficace.

Des vues vous ont été projetées. Il s'agit de viande de porc et de bœuf conservée 2 ans à la température ambiante après avoir subi une irradiation à la dose de 1,9 mégarad.

Les viandes de poulets ou de dindons irradiées ne présentent pratiquement pas de modifications de saveur ou d'odeur. Il en est de même pour un grand nombre de préparations, telles que certaines saucisses, divers plats préparés, etc...

c) *Produits végétaux.* La stérilisation par irradiation des jus de pommes donne d'excellents résultats : l'odeur n'en est pratiquement pas modifiée. Les autres fruits se comportent plus ou moins bien. Là encore, la nature de l'emballage présente une très grande importance.

Les fruits au sirop peuvent subir une irradiation à forte dose sans dommage : il suffit de prendre un certain nombre de précautions, en particulier ne traiter que des fruits frais.

d) *Produits divers.* De très nombreux produits utilisés en technologie alimentaire sont facilement stérilisables par les rayonnements ionisants : le sel, le sucre, les épices par exemple. Ces produits sont souvent pollués : les épices peuvent être envahies par des parasites (insectes, acariens). Leur introduction dans certaines préparations de charcuterie, par exemple, peut amener de graves accidents, leur radiostérilisation entraîne la destruction des microbes et des parasites.

Nous pouvons citer également la radiostérilisation des boyaux de porc destinés à la fabrication des saucissons ou des saucisses : nos expé-

riences ont montré qu'ils pouvaient la subir d'une façon très satisfaisante.

Le champ des possibilités d'utilisation de ces nouveaux procédés est donc particulièrement vaste.

Conclusions

Je vous prie de m'excuser d'avoir été si succinct. C'est volontairement, car le temps ne me l'aurait pas permis, que j'ai passé sous silence certains problèmes, comme celui de l'action des rayonnements sur les divers constituants des produits irradiés par exemple. J'ai préféré établir, à votre intention, un tableau général de l'état actuel de nos connaissances et des résultats qui peuvent être considérés comme acquis.

Comme vous le savez, d'importants travaux de recherches ont été réalisés en ce domaine : les conclusions qu'ils ont permis de tirer se révèlent entièrement favorables à l'utilisation future de ce nouveau procédé de conservation. Si l'on considère d'ailleurs la somme des travaux effectués par un si petit nombre de chercheurs spécialisés, et les résultats qu'ils ont acquis en si peu d'années, il est certain que le moment approche rapidement où ce procédé aura obtenu droit de cité.

Certains résultats pourraient d'ores et déjà être exploités industriellement : d'autres ne demandent que des mises au point. Il est certain que l'irradiation des denrées en vue de leur conservation (soit seule, soit conjointement avec les autres procédés de conservation) doit transformer les industries alimentaires et leur apporter dans un avenir proche une aide incomparable.

Résumé

Une nouvelle technique de conservation des denrées alimentaires est actuellement à l'étude dans les principaux pays du monde. Cette technique révolutionnaire consiste en l'utilisation de faisceaux d'électrons accélérés et de rayons gamma produits par des radioisotopes.

Quoique cette technique ne soit pas encore parvenue au stade industriel, les premiers résultats sont prometteurs.

Qu'il s'agisse d'accroître le rendement et la qualité des denrées alimentaires d'origine végétale, ou de préserver les denrées de toutes provenances, les radiations ionisantes constituent un moyen précieux pour résoudre certains problèmes de stérilisation, de pasteurisation ou de désinsectisation dans des conditions technologiques impossibles à obtenir actuellement.

Nous passons en revue diverses possibilités d'applications pratiques de cette nouvelle technique et nous citons les résultats les plus intéressants obtenus sur les denrées alimentaires les plus diverses.

Food preservation by means of ionising radiations

Summary

A new food preservation technique is now being investigated all over the world. This revolutionary technique consists in the use of accelerated electron beams and of gamma radiations produced by radioisotopes.

Although this technique has not as yet reached the industrial stage, the first results are promising.

For increasing yield and quality of plant produce and preserving all kinds of foods, the ionising radiations constitute a precious tool for solving certain sterilization, pasteurization or insect control problems under technological conditions as yet unobtainable.

Various application possibilities are reviewed and the more interesting results obtained with a great variety of foods recorded.

Konservierung von Nahrungsmitteln durch Ionenbestrahlung

Zusammenfassung

Zur Konservierung von Nahrungsmitteln wird gegenwärtig in allen grösseren Ländern der Welt ein neues Verfahren untersucht. Dieses revolutionäre Verfahren baut sich auf der Verwendung von beschleunigten Elektronenbündeln und durch Radioisotopen erzeugte Gammastrahlen auf.

Obgleich die Versuche mit diesem Verfahren für eine kommerzielle Auswertung noch nicht ausreichen, sind die ersten Resultate vielversprechend.

Ob es sich darum handelt, Ertrag und Qualität von Nahrungsmitteln vegetarischen Ursprungs zu vergrössern, oder die Nahrungsmittel vor jedweden Einflüssen zu schützen, immer stellen Ionenbestrahlungen ein wertvolles Mittel dar zur Lösung bestimmter Probleme der Sterilisation, der Pasteurisierung oder Vernichtung von Insekten in technologischen Bedingungen, die gegenwärtig zu erhalten unmöglich ist.

Wir betrachten nacheinander verschiedene praktische Anwendungsmöglichkeiten dieses neuen Verfahrens und die wichtigsten Ergebnisse die bei den verschiedensten Nahrungsmitteln erzielt wurden, aufzählen.

Radiostérilisation et radiopasteurisation des aliments

par P. Manil
Professeur à l'Institut agronomique de l'État, Gembloux (Belgique)

Il s'agit d'un problème complexe, aux aspects très divers : microbiologique et enzymatique, radiochimique, technologique, économique, sanitaire. Le présent exposé ne pourra donner, forcément, que quelques notions fragmentaires de la question. Signalons, par exemple, en passant, que le compte-rendu de la réunion européenne organisée par la FAO, en 1958 à Harwell, comporte plus de 300 pages, sans que le sujet soit, loin s'en faut, épuisé.

Disons tout de suite que, d'une façon générale, l'enthousiasme d'il y a quelques années s'est quelque peu atténué, et que nous en sommes, semble-t-il, encore loin du remplacement des techniques classiques de conservation, par l'emploi des radiations. Cependant, certains résultats ont été acquis, dans des cas déterminés. Et, de toute manière, ni les difficultés, tant techniques qu'économiques, ni même des demi-échecs, ne permettent d'abandonner l'étude, aussi bien fondamentale que pratique, du problème de la radiostérilisation des aliments. Le faisceau des recherches organisées à ce sujet dans la plupart des pays est, du reste, éloquent à cet égard. Signalons encore qu'en aucun pays la législation ne permet encore la consommation et la mise en vente de produits irradiés, bien qu'il ne semble pas que de grosses difficultés doivent surgir de ce côté.

***

Les sources principales de radiations utilisées actuellement sont constituées par des isotopes : Co^{60}, Cs^{137} et par des produits bruts de fission. C'est ce qui justifie l'inscription de cette communication dans le cadre du présent colloque. Cependant, des machines accélératrices d'électrons ont été utilisées également. Nous verrons ultérieurement, de façon très brève, quels sont les principaux avantages et inconvénients de l'emploi de ces deux sources d'énergie.

L'idée de préserver des aliments en les soumettant aux radiations ionisantes n'est pas neuve, loin s'en faut. L'effet microbicide des rayons X et des radiations émises par le radium fut découvert il y a longtemps. En 1929, un brevet fut même déposé en France, ayant trait à l'emploi de radiations de haute énergie en vue de la conservation des aliments.

Dès la fin de la seconde guerre mondiale, les recherches s'amplifièrent de façon spectaculaire, dans certains pays tout au moins, et cela, en raison de l'existence de sources accrues d'isotopes, et des perfectionnements apportés aux appareils accélérateurs d'ions.

***

Il n'entre pas dans le cadre de cet exposé de donner les théories émises quant à la mort ou l'« inactivation » cellulaires, bactériennes notamment, sous l'effet des radiations.

Il nous importe peu, ici, de savoir s'il y a mort immédiate ou différée, s'il y a effet direct sur les constituants essentiels des cellules, ou s'il y a effet indirect, par les poisons résultant de l'effet radiochimique ; il nous importe peu également de savoir s'il y a mutation léthale des cellules microbiennes, ou simplement inhibition des mitoses.

Disons simplement que, lorsqu'on applique une dose léthale à 99 %, 50 % ou 37 %, par exemple, cela signifie que, par rapport à la population microbienne « témoin », non traitée, on n'obtient plus que 99 %, 50 % ou 37 % du nombre des colonies observables en conditions normales.

Les chiffres cités ci-dessus sont communément utilisés lorsqu'on étudie l'inactivation des microgermes par les radiations. Le chiffre 37, cité ci-dessus, correspond à $1/e \times 100$. Il est aisé de démonter que la dose « à 37 % », divisée par le nombre d'organismes inactivés, donne la dose requise pour « tuer » un organisme.

Il va de soi, que, dans la radiostérilisation des aliments, il faut monter à des degrés d'inactivation infiniment supérieurs à 99 %. Dans les aliments « non acides », c-à-d. de pH supérieur à 4,5, où *Clostridium botulinum* peut constituer un danger, on a proposé récemment que le traitement garantisse une réduction par 10^{12} du nombre initial de germes.

***

Assez communément, les courbes exprimant le nombre de survivants en fonction de la dose sont exponentielles (ou logarithmiques). On a observé cependant des courbes plus complexes. Notons, sans nous y attarder, que l'allure de la courbe de survivance dépend de l'organisme considéré, de son état sporulé ou non, de l'âge des cellules, de la présence ou de l'absence d'agrégats bactériens, et des conditions de milieu.

Il semble bien aussi que, pour la même énergie utilisée, les rayons gamma, les rayons cathodiques à haut flux et les rayons X aient le même effet léthal.

Les spores bactériennes (importantes à considérer dans la stérilisation des aliments) sont beaucoup plus résistantes que les formes végétatives. C'est là, peut-être, le seul point commun avec les traitements thermiques. Pour le reste, il n'y a pas de corrélation entre la sensibilité aux radiations et la thermosensibilité. Les germes Gram + sont généralement plus résistants aux radiations que les germes Gram —.

Si l'on compare entre elles diverses espèces bactériennes intéressant l'industrie alimentaire, on observe de profondes différences. Par exemple *Clostridium botulinum* exige, pour une destruction à 99 %, de 800 à 1300 krad. Il en est de même pour d'autres anaérobies sporulés. *Pseudomonas geniculata* n'exige que de 7 à 23 krad. Des lactobacilles vont de 55 à 220 krad. *Streptococcus faecium* est détruit à 99 % par 174-654 krad. Mais certains *Micrococcus* (*Micrococcus radiodurans*, par exemple) vont jusqu'à 2000 krad.

Dans des conditions déterminées, les doses suivantes sont nécessaires pour stériliser complètement certaines préparations bactériennes ou fongiques :

Salmonella : de 50.000 à 100.000 rad.
Formes bactériennes végétatives diverses : de 50.000 à 500.000 krad ;
Levures, moisissures (spores), bactéries sporulées : plus de 1 mégarad ;
Certaines espèces, comme *B. subtilis*, *Clostridium sporogenes Cl. botulinum* exigent plus de 2 mégarads.

On admet généralement que, dans les aliments, une dose de 100.000 rad réduit de 100 à 1.000 fois le nombre de bactéries.

La courbe de survie étant, très généralement, logarithmique, il faudra augmenter considérablement la dose pour passer par exemple, de 99 % à 100 % de destruction. Par exemple, 71000 rep inactivent à 99,7 % une culture de *Proteus vulgaris*, mais il faut monter à 289.000 rep pour obtenir une stérilisation pratiquement totale (Lawrence *et al.*, 1953).

Dans le domaine pratique, on a observé que, pour réduire à moins de 1 spore vivante de *Cl. botulinum*, une population initiale de 1×10^{12} spores, il fallait appliquer $4{,}5 \times 10^{6}$ rad. Ce qui donne le même effet qu'un chauffage de 2,78 minutes à 121°C.

Un mot encore à propos de la destruction bactérienne par les radiations : une série de facteurs externes modifient, dans un sens ou dans l'autre, la radiosensibilité : la concentration des cultures (ou la richesse des aliments en germes) ; le pH ; l'état congelé ou non, le degré d'hydratation de l'aliment ; la présence d'oxygène ; la présence de certains composés chimiques (corps à fonction -SH, réducteurs), la concentration ionique, etc. Certains agents agissent comme radiosensibilisants, d'autres comme radioprotecteurs.

Enfin, l'intensité (« dose rate ») du traitement a peu d'importance pour la destruction microbienne. Seule compte la dose totale reçue ; cependant, l'intensité du traitement a de l'importance en ce qui concerne les altérations radiochimiques des aliments (les traitements intenses et rapides ont des effets moindres).

***

Les enzymes son particulièrement radiorésistants, alors que leur sensibilité aux traitements thermiques est plus grande que celle des bactéries sporulées. Il s'agit d'enzymes *in situ*, c.à.d. dans des aliments, par exemple, car en préparations liquides purifiées, les enzymes sont assez radiosensibles, en général. Par exemple, la catalase en solution est inactivée par 25.000 rep, alors que, dans un broyat de pommes de terre, le même effet n'est obtenu que par 5 millions de rep.

On trouve dans la littérature les chiffres suivants, concernant divers enzymes, irradiés dans des aliments

Tableau I

	% d'inactivation par les doses suivantes, en millions de rep.		
	1	5	8
Phosphatase, dans le lait	45	92	
Succinoxydase, dans le foie	10	50	
Enzymes protéolytiques, dans le rein de bœuf	30	62	76
Tyrosinase, dans le champignon de couche	33	45	

La radiosensibilité d'enzymes divers peut varier dans d'assez larges limites, en fonction, notamment du substrat qui les contient, mais il faut donc noter le haut degré de protection conféré par les constituants cellulaires normaux.

***

On s'est préoccupé, naturellement, des modifications radiochimiques induites au sein des aliments, par l'irradiation. Nous ne pouvons étudier ici le mécanisme même de ces effets radiochimiques, dus à la production de radicaux libres, dont certains (OH^{o}, HO_2^{o}) sont d'énergiques agents oxydants, capables de réagir avec des composés organiques pour donner des radicaux organiques libres, et des hydroperoxydes organiques plus ou moins stables.

Les protéines peuvent être dénaturées, dégradées ou polymérisées. Par exemple, le lait entier coagule sous l'influence d'une dose de 3×10^6 rep. Souvent, ces altérations sont difficilement décelables chimiquement, mais on peut les détecter par des méthodes physiques : changements de viscosité, de stabilité vis-à-vis de la chaleur, de solubilité, etc. On a calculé qu'une dose de 1 million de rep altérait 1 molécule sur 2000 d'un acide aminé de poids moléculaire 150 ; la même dose altère 50 % des molécules d'une protéine de poids moléculaire de 150.000.

Notons ici que, sous l'effet des radiations, les acides aminés sulfurés (cystéine, cystine, méthionine), ainsi que la leucine, sont la source de composés malodorants.

Des doses de 3×10^6 rep n'altèrent pas la valeur nutritive des protéines de la viande, considérée du point de vue de la digestibilité de l'azote et de sa « valeur biologique », c.à.d. le rapport entre N absorbé et N réellement assimilé.

Pour le lait, par contre, et pour la même dose, il y a diminution de 8 % environ de la valeur biologique de N (contre 5 % pour le traitement thermique).

Pour certaines protéines végétales (haricot de Lima, par ex.) il y aurait même amélioration de la digestibilité de l'azote et de sa valeur biologique, moindre cependant qu'après traitement par la chaleur.

En ce qui concerne les hydrates de carbones, il y a altération des hexoses et des sucres en C^{12}, oxydation des poly-alcools, et surtout, pour ce qui nous intéresse, dépolymérisation des polysaccharides (celluloses, dextranes, amidon). On a observé des combinaisons entre sucres simples et acides aminés. Une irradiation à 3×10^5 rep de rations synthétiques contenant de l'amidon et du glucose, n'a montré aucun changement au point de vue énergie métabolisable.

L'irradiation des lipides a comme effet tangible la production d'odeurs anormales, ressemblant à celles dérivant du rancissement. Il semble bien que les processus chimiques impliqués soient du même ordre, dans les deux cas : formation d'hydroperoxydes et par la suite, d'une série de produits de dégradation : aldéhydes volatils, cétones, acides, d'odeur désagréable.

En résumé, l'irradiation (aux doses utilisables pour la stérilisation) n'altère pas de façon appréciable la valeur nutritive des aliments. Il faut cependant tenir compte de la destruction partielle de certaines vitamines (moindre pourtant que lors du traitement thermique). L'acide ascorbique est particulièrement sensible. La riboflavine l'est moyennement. La thiamine est détruite à 70 % par une dose de 3×10^6 rep.

On a évalué à 0,003 % la proportion des composés présents dans les aliments, et altérés par les doses courantes de stérilisation.

Le principal inconvénient de l'irradiation consiste donc en la production de couleurs, de saveurs et d'odeurs anormales.

D'autres points sont encore à élucider : production de composés toxiques ou d'antimétabolites, par exemple. Bref, une certaine prudence s'impose encore en ce domaine.

*
* *

Sources de radiations utilisées expérimentalement pour la radiostérilisation et la radiopasteurisation des aliments :

A) Isotopes
   1) Produits dans les piles : Ex. Co^{60}
   2) Isotopes de fission
      a) bruts
      b) purifiés (Cs^{137})
   3) Réacteurs

B) Accélérateurs de particules
   1) Directs — a) type Van de Graaff
      b) autres types
   2) Indirects — a) à résonance
      b) autres types.

Les deux principaux isotopes utilisables sont Co^{60} et Cs^{137}.

	Cs^{137}	Co^{60}
Nombre de watts/curie	3.2×10^{-3}	14.2×10^{-3}
Nombre de curies équivalant à 1 kw	304.000	70.400
Coût par curie (U.S.A., 1957)	6	5

Pour stériliser, à la dose de 2×10^6 rep, à raison de 1 livre d'aliment par seconde (à 100 % de rendement) il faut 500.000 curies de Co^{60}. Le rendement effectif (dépendant de la géométrie de la source) varie de 5 à 40 %.

*
* *

La littérature résume comme suit les avantages et inconvénients respectifs des accélérateurs d'ions et des isotopes, en vue du traitement des aliments :

Accélérateurs		Isotopes	
Avantages	Inconvénients	Avantages	Inconvénients
Disponibles actuellement, à des débits suffisants.	Possibilités d'utilisation pratique pour l'industrie alimentaire non encore établie.	Emission continuelle d'énergie, à des taux de désintégration connus.	Sources non disponibles actuellement, en quantité suffisantes.
Arrêts et mises en marche à volonté.		Utilisation possible des emballages courants, en raison du pouvoir pénétrant des radiations émises.	Remplacement périodique des éléments radioactifs
Aisément amovibles.		Amovibles, si les sources sont des isotopes purs ou des produits de fission concentrés.	Précautions plus grandes que pour les accélérateurs (émission continue d'énergie, pouvoir plus fort).
			Non amovibles, si l'on utilise des réacteurs, ou des produits bruts de fission.

(Inspiré de C. L. Comar, 1957).

On donne aussi, par exemple, les chiffres suivants : pour traiter 250 livres d'aliments, par heure, à la dose de 2 Mrads (rendement 40 %) il faut 100.000 curies de Co^{60} (S. Jefferson, 1958). Il y a intérêt à occuper au maximum l'espace entourant la source, et même, les récipients à irradier seront répartis sur plusieurs couches.

L'évaluation des coûts d'irradiation (basée sur des déterminations de laboratoire et des calculs théoriques) donne, par exemple, un prix de revient de 0,3 pence/lb pour 2.500 lb/hr à r $\times 10^6$ rad (1958).

En ce qui concerne les accélérateurs de particules, les flux d'électrons sont les plus communément utilisés. Les particules lourdes, comme les protons, sont peu intéressantes, car leur pénétration est insuffisante, et d'autre part, elles induisent de la radioactivité dans le produit à traiter. On utilise aussi les rayons X produits par le choc sur une cible adéquate des électrons, accélérés. Le procédé semble cependant de peu d'intérêt technique et économique.

La production de neutrons, comme résultat de l'irradiation primaire par les électrons ou les rayons X interdit l'emploi d'énergies supérieures à 15 MeV.

On peut aisément calculer la relation entre accélérateurs et sources isotopiques :

1 kW = 360 Mrads/heure

1 accélérateur de 1 kW correspond à 100.000 curies du Co^{60}

1 accélérateur de 30 kW correspond approximativement à 3. $\times 10^6$ curies.

Il existe actuellement des accélérateurs linéaires de 30 kW de puissance.

Le pouvoir pénétrant des électrons est, pour l'eau et pour des substances de poids atomique faible, de 0,5 cm par MeV d'énergie, soit 5 cm pour 10 MeV. On doit prévoir, en conséquence, un système de circulation des produits ou récipients à stériliser, dans le flux d'électrons. Par contre, le shielding est plus simple à réaliser que pour les sources de rayons gamma.

*
* *

Un problème que nous ne ferons qu'effleurer ici est le problème de la dosimétrie (mesure de la dose absorbée). On connaît les techniques utilisant l'oxydation du sulfate ferreux en sulfate ferrique, ou du sulfate céreux en sulfate cérique. Ces méthodes conviennent cependant mal pour un processus industriel.

Pour les doses intéressant l'industrie alimentaire (10^4 à 10^7 rad), de nombreux systèmes de dosimétrie ont été préconisés, mettant en œuvre :

— des modifications de densité optique (verres au phosphate d'Ag, au cobalt, à l'antimoniate, etc ; plastiques divers ;
— des modifications de densité (emploi d'un polyesther du styrène, etc ;
— action sur des colorants, indicateurs de rH notamment ;
— luminescence (usage d'anthracène, par ex.)

D'autres méthodes ont été décrites.

Un aspect particulier du problème est à considérer : il est certain que des mesures législatives exigeront que les aliments irradiés portent une indication indiquant le traitement subi, et qu'un contrôle doit être possible. On peut donc prévoir qu'une proportion donnée des emballages à irradier devrait contenir un système permettant de contrôler la dose effectivement reçue.

***

Il existe, bien entendu, une série de problèmes d'ordre technique qu'il nous est impossible d'exposer ici, et qui sortent, du reste, du domaine de notre modeste compétence. Par exemple, lorsqu'il s'agit de sources isotopiques, l'étude de la géométrie des sources (forme et disposition des sources de Co^{60}, disposition des aliments à traiter).

***

Envisageons rapidement maintenant les résultats acquis à ce jour, tels que la littérature les livre :

Viandes et volailles : les doses requises pour la destruction totale des microorganismes entraînent l'apparition de goûts et d'odeurs désagréables, variables du reste, avec la nature du produit traité.

Le *poisson* présente les mêmes caractéristiques.

Les *œufs et dérivés* peuvent être traités de façon efficiente, par des doses assez faibles (5×10^5 rad) en vue de la destruction des *Salmonella*. Il s'agit là d'une application que l'on peut déjà considérer comme satisfaisante à l'échelle commerciale.

Lait : le lait est peut-être l'aliment le plus sensible aux radiations en ce qui concerne l'apparition d'un goût et d'une odeur anormaux. Des doses de 7- à 25.000 rad donnent déjà un effet notable. Les constituants lipidiques et non-lipidiques du lait entrent en jeu ici (dans le cas de la viande, il semble que les graisses ont peu d'importance, en l'occurrence). La prépasteurisation du lait et son homogénéisation réduisent les effets indésirables. Il en est de même si l'on traite le lait en poudre.

Conserves de fruits et de *légumes* : des doses dépassant 1 Mrad sont nécessaires pour stériliser complètement ces conserves. Dans ce cas, on s'accorde généralement pour dire qu'il y a diminution de la qualité des produits, et il n'y a aucun intérêt, dans l'état actuel des choses, à abandonner les méthodes classiques de conservation.

Le tableau suivant donne, pour divers aliments, une estimation des résultats à attendre, selon les aliments considérés (1956).

Dose : 2.000.000 rep.

Bons résultats	Résultats moyens ou douteux	Mauvais résultats
Asperges	Jus de pommes	Bananes
Bacon	Beefsteak	Haricots
Haricots verts	Pain	Céleri
Foie de bœuf	Choux	Fromages
Choux de Bruxelles	Cerises	Saucissons de Frankfort
Carottes	Maïs	Jus de citron
Poulet	Flétan	Laitue
Porc	Jambon	Lait
Saucisse de porc	Cotelettes de mouton	Jus d'orange
	Pois	Fraises
	Epinards	

(D'après H. W. Schultz *et al.*, 1956).

*
* *

On a été amené logiquement à essayer de combiner un traitement aux radiations avec d'autres procédés de conservation, en vue, notamment, de réduire les doses et par conséquent les effets nocifs de l'irradiation. En bref, disons que plusieurs procédés sont en expérience. On peut les répartir en deux groupes :

a) Ceux qui conservent à l'aliment son caractère « frais » : conservation à basse t°, après irradiation ; emballage sous vide ; addition de produits anti-microbiens, comme certaines antibiotiques ;

b) Ceux qui altèrent plus ou moins le caractère de fraîcheur de l'aliment (chauffage, salaison, etc).

Par exemple, un traitement à dose moyenne de (5×10^3 à 10^5 rad) permet de quintupler la conservation de viandes diverses à une t° de l'ordre de 0,5° C. Il en est de même pour le poisson.

*
* *

Signalons encore l'usage des radiations gamma, bien connu expérimentalement, afin de retarder ou d'inhiber la germination de tubercules et des bulbes (doses de 6.000 à 10.000 rad).

De même, l'irradiation permet d'augmenter notablement la durée de conservation de certains fruits (fraises, pour 0,2 à 0,4 Mrad ; prunes, pour les mêmes doses, etc.). On a pu accroître considérablement le délai de mollissement des poires, par 0,3 Mrad.

Signalons enfin, pour mémoire, la désinfestation de divers aliments (destruction de parasites divers, insectes, acariens, etc, et des vers parasites de certaines viandes).

Bornons-nous à deux exemples.

Un traitement des graines de céréales, à 0.5 Mrad, provoque, endéans les 24 heures qui suivent, la mort de tout insecte parasite. A cette dose, on observe également une destruction notable de la microflore, permettant une conservation accrue à un taux d'humidité relativement élevé. Une dose de 100.000 rad provoque la mort des parasites en 7 jours ; une dose de 15.000 à 20.000 rad a le même effet, mais en 3 semaines.

Dans les viandes, des doses comprises entre 10 et 100 krad tuent, ou en tous cas inhibent, l'évolution ultérieure des larves de *Trichinella* et de *Cysticercus*.

Bien entendu, en pratique, les traitements se heurtent, pour les grains surtout, à de grosses difficultés d'ordre technique et d'ordre économique.

***

En terminant cet exposé, je voudrais évoquer simplement quelques-unes des résolutions adoptées récemment (avril 1960) à Paris, par un groupe de microbiologistes réunis à l'intervention de la FAO.

Lors de la *radiostérilisation* des aliments « non acides » c.à.d. de pH supérieur à 4,5, la dose appliquée doit éliminer toute chance de contamination par *Clostridium botulinum*. Pratiquement, on admet que ce résultat est atteint si le nombre d'organismes survivants est réduit à $1/10^{12}$ du nombre initial d'organismes. En fait, la dose à appliquer doit être établie par un calcul d'extrapolation, car il serait difficile d'étudier, par expérience directe, un tel seuil d'inactivation. Le calcul est réalisable, tenant compte de la loi exponentielle de destruction microbienne.

Les observations doivent être faites sur l'aliment lui-même et non sur des cultures de laboratoire.

Il serait souhaitable que les recherches, effectuées surtout au moyen d'isotopes émetteurs de rayons gamma, soient étendues aux flux accélérés d'électrons.

A priori, les altérations radiochimiques à éviter ou à limiter font rejeter tout traitement à des doses dépassant 5 Mrad.

A propos de la *radiopasteurisation*, il est établi que des doses de l'ordre de quelques centaines de krad augmentent plusieurs fois la durée de la conservation ultérieure.

Cependant, les aliments doivent être conservés dans les conditions normales de conservation par le froid. Il est à noter cependant que l'irradiation, en dehors de ses effets anti-microbiens, peut provoquer dans certains cas une altération plus rapide des aliments (rancissement oxydatif, p. ex.). La durée de la conservation peut, de ce fait, être plus courte que celle basée sur les tests microbiologiques.

On a proposé aussi d'intensifier les recherches sur les organismes radiorésistants, ainsi que sur la radiorésistance acquise, observée dans certains cas.

Doivent être poursuivies également les recherches touchant par exemple, à la protection ou à la sensibilisation des microgermes par des composés contenus dans les aliments ou apportés à ceux-ci.

Il semble enfin que les études visant à la radiostérilisation ou à la radiopasteurisation doivent envisager séparément chaque type d'aliment.

Résumé

La stérilisation et la «pasteurisation» des aliments par les rayons gamma et les flux accélérés d'électrons ont fait l'objet, au cours des dernières années, d'un courant de recherches très vaste.

Il est impossible, cependant, de présager, à l'heure actuelle, quel sera l'intérêt pratique réel de ces nouvelles techniques.

Seront envisagés brièvement, au cours de la présente communication, les points suivants :

— L'effet anti-microbien des radiations ;

— L'effet radiochimique des radiations sur les aliments, et sur leurs principaux constituants ;

— Les résultats obtenus, à l'heure actuelle, sur divers aliments : viande, volaille, œufs, poisson, lait et produits dérivés, fruits et légumes, etc. Problèmes divers soulevés.

Suivront quelques considérations sur les sources de radiations utilisées (aspects techniques et économiques).

Radiosterilization and radiopasteurization of food

Summary

Food sterilization and « pasteurization » using gamma rays and high speed electron fluxes have been the object of intensive research work during the last few years.

It is impossible however to augur at present the real practical interest of these new techniques.

In the present paper the following aspects of the problem will be briefly discussed :

— The antibacterial effect of radiation.

— The radiochemical effect of radiation on various foods and their main components.

— The results so far obtained on meat, poultry, eggs, fish, milk and milk products, fruit and vegetables, etc. Some problems dealing therewith are aroused.

Finally the technical and economic aspects in connection with the sources of energy used will be considered.

Strahlensterilisierung und Strahlenpasteurisierung von Nahrungsmitteln

ZUSAMMENFASSUNG

Die Sterilisierung und Pasteurisierung von Nahrungsmitteln durch Gamma-Strahlen und Ströme von beschleunigten Elektronen haben in den vergangenen Jahren zu weitausgehenden Forschungen Anlass gegeben.

Es ist jedoch im Augenblick unmöglich vorauszusagen, welches das wirkliche praktische Interesse dieser neuen Methode sein wird.

In dieser Mitteilung werden folgende Kapitel kurz berührt :

Der anti-mikrobielle Einfluss der Strahlen ;

Der strahlen-chemische Einfluss der Strahlungen auf die Nahrungsmittel und auf ihre hauptsächlichen Bestandteile ;

Die für verschiedene Nahrungsmittel bis jetzt gefundenen Ergebnisse : Fleisch, Geflügel, Eier, Fisch, Milch und die von diesen stammenden Erzeugnisse, Obst und Gemüse usw. Verschiedene angetroffene Probleme werden besprochen.

Es folgen darauf einige Betrachtungen über die angewandten Strahlenquellen (technische und ökonomische Gesichtspunkte).

Essais d'application de l'irradiation gamma à la stérilisation des légumes (*)

par L. Bolly
Ingénieur agronome et des industries agricoles, INACOL
A. Piérard
Docteur en Sciences Chimiques, INACOL, Wesembeek-Ophem
et M. De Proost
Ingénieur chimiste et des industries agricoles, Centre d'Étude de l'Énergie nucléaire, Mol (Belgique)

I. — Introduction

Lors du choix d'un procédé de stérilisation, il importe de tenir compte de plusieurs facteurs :

1) stérilité, c'est-à-dire élimination des bactéries pathogènes et destruction des spores, afin d'éviter toute détérioration due aux micro-organismes lors du stockage ;

2) maintien des qualités organoleptiques (coloration, texture, saveur) ;

3) inactivation des enzymes (pour éliminer toute détérioration d'origine enzymatique au cours du stockage).

Ces trois buts influencent l'entièreté du processus de fabrication, encore que la stérilité soit principalement obtenue lors de l'opération finale.

Dans le cas de l'appertisation, les barèmes de stérilisation (c'est-à-dire le maintien du produit à une température donnée pendant un temps donné) sont déterminés en vue d'éliminer les spores les plus thermorésistantes. L'organisme de référence choisi pour sa thermorésistance élevée est le Putréfactive Anaerobe 3679 de la National Canners Association, organisme du type Clostridium sporogènes.

Parmi les barèmes de stérilisation bactériologiquement équivalents, le choix de la température et de la durée d'application est effectué en tenant compte des qualités organoleptiques du produit fixé. L'inactivation des enzymes est assurée à la fois par la stérilisation et par le blanchiment qui la précède.

Cependant, l'application de barèmes de stérilisation thermique a souvent pour effet de dégrader les qualités organoleptiques du produit.

(*) Recherches subsidiées par l'Institut pour l'Encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture (I.R.S.I.A).

C'est pourquoi, on a considéré que l'application de l'irradiation permettrait d'éviter ces effets néfastes.

Les études assez nombreuses, faites dans ce sens, furent résumées lors de la Réunion Européenne sur l'utilisation des rayonnements ionisants pour la préservation des denrées alimentaires, à Harwell (Angleterre) en novembre 1958.

Ces travaux ont permis de conclure que les radiations ionisantes, utilisées seules, pourraient difficilement jouer le rôle de l'appertisation. Cette conclusion est soutenue par les observations suivantes :

1) les organismes thermorésistants sont aussi les plus difficiles à détruire par l'irradiation.

Les spores bactériennes résistent fréquemment à des doses supérieures à 1 Megarad.

Les radiorésistances de *Bacillus subtilis*, de *Clostridium sporogenes*, et surtout du dangereux organisme pathogène qu'est le *Clostridium botulinum*, peuvent dépasser 2 Megarads (1).

2) Il est certain que les qualités organoleptiques des légumes sont dépréciées par les doses d'au moins 2 Megarads qu'exigerait leur stérilisation (2).

3) Enfin, les radiations ionisantes ne peuvent intervenir que pour une faible part dans l'inactivation des enzymes dont la plupart résistent à des doses d'au moins 5 Megarads (3). Il est donc indispensable de maintenir un traitement thermique suffisant pour assurer la destruction de ces agents biochimiques.

Par contre, les radiations ionisantes paraîssent, à priori, susceptibles de fournir des résultats plus intéressants si elles sont appliquées en combinaison avec une stérilisation thermique. Un tel procédé, tout en réalisant l'inactivation des enzymes et en réduisant les mauvais goûts résultant de l'irradiation, a l'avantage de diminuer le traitement thermique nécessaire pour assurer la stérilité. Plusieurs auteurs, en effet, ont montré que la chaleur et les radiations ionisantes exercent une action synergique lorsqu'elles sont utilisées pour la destruction des bactéries anaérobiques (4-5-6) et des spores de *Clostridium botulinum* et de *Clostridium sporogenes* PA 3679 dans les viandes (7-8-9).

Au cours de l'année 1959, l'INACOL en collaboration avec le C.E.N. (Centre d'Études de l'Énergie Nucléaire) de Mol, s'est attaché à évaluer le profit que l'on peut tirer de la combinaison : irradiation gamma et chaleur, pour la stérilisation des légumes.

D'une part, nous avons étudié la résistance des spores du PA 3679 de la National Canners Association à un barème de stérilisation mixte irradiation-chaleur (10). Cet organisme paraît, en effet, actuellement être le plus résistant à ce traitement mixte (9). Nous avons mesuré sa

résistance successivement dans un milieu de référence (tampon phosphate pH 7.0) et dans des milieux légumes : pois, épinards et asperges.

D'autre part, en tenant compte de ces résultats, nous avons comparé sur ces mêmes légumes, les effets organoleptiques des différentes techniques de stérilisation : par la chaleur, par irradiation et par le traitement combiné : irradiation + chaleur (11).

***

II. – Étude de la résistance des spores de Clostridium sporogenes PA 3679 à un traitement mixte irradiation-chaleur

a) En milieu tampon phosphate pH 7.0

Nous avons comparé les avantages d'une préirradiation et d'une postirradiation.

Les mesures de résistance des spores ont été effectuées au moyen de tubes de thermorésistance (Thermal Death Time tube) renfermant 10.000 spores de PA 3679 pour 2 ml de milieu tampon phosphate à pH 7,0, et scellés sous vide. Ces tubes furent ensuite irradiés à 0-5° C au moyen d'une source au cobalt de 6.000 curies dont le flux est de 4.6×10^5 ($\pm$ 1 %) rads-heure, puis soumis à un barème thermique dans un ultra thermostat ou inversement.

Après traitement, le contenu de chacun des tubes fut subcultivé sur milieu au foie (Libver Broth) et soumis à l'incubation à 37° C pendant 30 jours. Après ce délai, les tubes où les subcultures ne se sont pas développées, furent considérés comme stériles. Une correction de 0,75 à 0,85 minute (lag-time) fut effectuée sur les temps de stérilisation afin de tenir compte de la pénétration de chaleur.

Nous avons déterminé ainsi le « F 250 » c'est-à-dire le nombre de minutes nécessaires pour détruire l'inoculum dans le produit considéré à la température de 250° F ou 121,1° C.

Le graphique de la figure 1 permet de comparer l'effet obtenu suivant l'ordre d'application de l'irradiation et du traitement thermique. Dans l'un et l'autre cas, nous avons constaté une synergie. Toutefois, le procédé consistant en une irradiation suivie d'un traitement thermique est incontestablement plus efficace pour la destruction des spores de PA 3679.

Lors d'essais analogues, Morgan et Reed (4) ont observé que la sensibilité des spores bactériennes n'est pratiquement pas accrue par un préchauffage. Par contre, une préirradiation les rend plus vulnérables à la chaleur. Ces observations ont été confirmées par Kempse (6-7) pour *Clostridium botulinum* et par Kan *et al.* (5) pour *Bacillus cereus* et PA 3679.

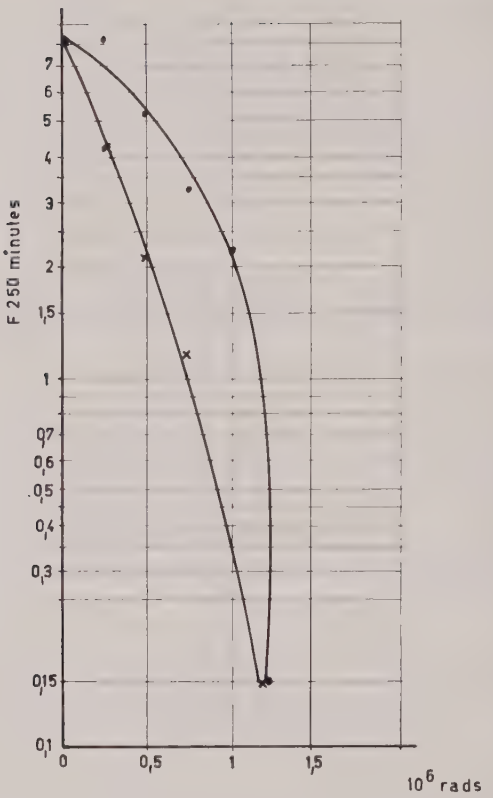


Fig. 1 — Comparaison de l'efficacité des traitements combinés : préirradiation + stérilisation thermique (courbe ×) prétérilisation thermique + (irradiation (courbe ●).

b) EN MILIEUX LÉGUMES

Lors des mesures de la résistance des spores de PA 3679 en milieux légumes, nous avons uniquement utilisé la technique consistant en une préirradiation suivie d'un traitement thermique.

Les mesures de résistance des spores ont été effectuées par la méthode des boîtes de thermorésistance (Thermal Death Time cans) d'environ 2 1/2 inches de diamètre et 3/8 inch de hauteur, contenant environ 15 g. de produit.

Ces boîtes inoculées par 10.000 spores de PA 3679 ont été irradiées à 0-5° C par la même source de cobalt dont le flux est de 4.4. × 10° C (± 1 %) rads/heure, puis soumises à un traitement thermique en phase vapeur dans un autoclave vertical spécialement équipé. Après traitement, les boîtes ont été stockées à 37° C pendant 6 semaines, les boîtes non bombées après ce délai étant considérées comme stériles.

Les temps de stérilisation ont été corrigés afin de tenir compte de la pénétration de chaleur (12).

Les graphiques des figures 2, 3 et 4 montrent la réduction du facteur F (temps nécessaire pour détruire l'inoculum à 250° F (121,1° C) ou 240° F (115,6° C) en fonction de dose d'irradiation préalable.

L'examen de ces graphiques permet de constater que la décroissance de la thermorésistance en fonction des doses d'irradiation est moins rapide en milieux légumes qu'en milieu tampon phosphate. Ceci est l'indice d'un effet protecteur de ces milieux vis-à-vis de l'irradiation, effet particulièrement marqué pour le milieu pois.

Malgré l'effet protecteur, une préirradiation à la dose de 1 Megarad réduit les F 240 en milieux épinards et asperges à environ 13 % de leur valeur normale. Une préirradiation à la dose de 1,5 Megarad permet de diminuer le F 250 en milieu pois jusqu'à 20 % de sa valeur initiale.

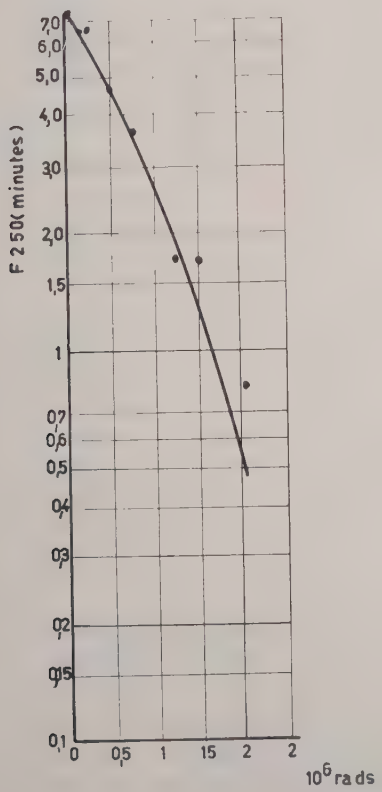


Fig. 2 — Influence de l'irradiation γ à des doses croissantes sur le F 250 requis pour détruire 10.000 spores de PA 3679 en milieu Pois

L'application de ce traitement combiné provoque donc une réduction appréciable de la thermorésistance des spores bactériennes en milieux légumes.

*
* *

FIGGS. 3 et 4. — Influence de l'irradiation γ à des doses croissantes sur le F 240 requis pour détruire 10.000 spores de PA 3679

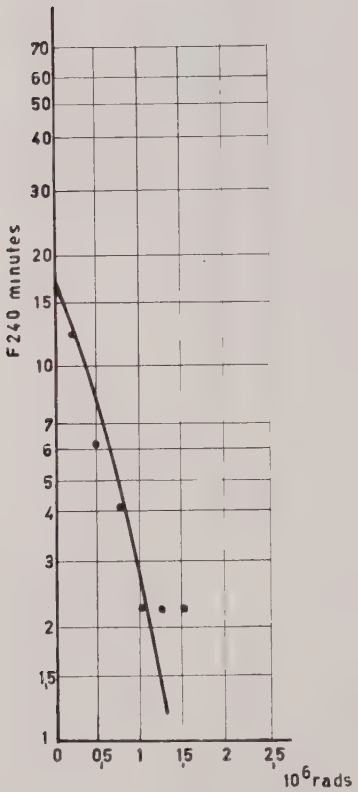


FIG. 3. — Milieu épinards

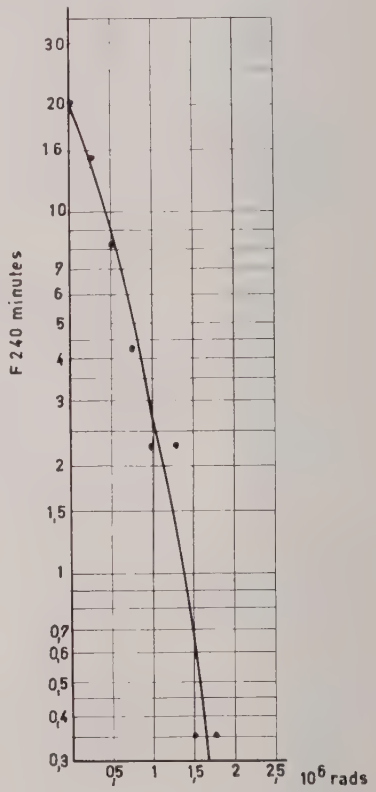


FIG. 4. — Milieu asperges

III. — Étude des effets organoleptiques d'un traitement mixte irradiation-chaleur sur pois, asperges et épinards

Afin d'évaluer l'intérêt du traitement combiné, du point de vue organoleptique, nous l'avons comparé sur pois, asperges et épinards, aux traitements par la chaleur seule et l'irradiation seule.

Les barèmes ont été choisis en fonction d'une part des mesures de (thermo et radio) résistance des spores de PA 3679 et d'autre part de

la courbe de pénétration de la chaleur dans le légume pour le format de la boîte utilisée.

La préparation des échantillons et les traitements thermiques ont été effectués à l'INACOL. Les délais ont été réduits au minimum et les échantillons ont été maintenus dans la glace fondante pendant les transports.

Les irradiations ont été effectuées au C.E.N. au moyen de la même source de cobalt 60 de 5.700 à 5.500 curies dont le flux gamma au moment des irradiations variait entre 4,5 et 5,0 $\times 10^5$ ($\pm$ 1 %) Rads/heure.

La température pendant l'irradiation était de l'ordre de 2 à 6° C. Les échantillons stérilisés furent stockés à 0° et à 20° C et examinés après 15 jours, 3 mois et 6 mois de stockage. Des cotations furent attribués en ce qui concerne la coloration et la saveur par une équipe de dégustateurs entraînés, les échantillons étant amenés à la température de 20° C environ.

Les tableaux I à IV indiquent les moyennes de ces cotations.

En résumant l'ensemble de ces observations et en tenant compte des résultats obtenus par d'autres chercheurs, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

1) Influence de la technique de stérilisation

a) *Coloration*

L'irradiation a indiscutablement une action moins défavorable que le traitement thermique sur la coloration des asperges, des pois et des épinards.

Le traitement mixte a des effets intermédiaires entre ceux produits par l'irradiation et ceux produits par le traitement thermique. Il y a donc amélioration par rapport à l'appertisation.

b) *Saveur*

Les asperges soumises à l'irradiation manquent d'arôme. La saveur des pois irradiés est inférieure à celle des pois appertisés. D'après plusieurs auteurs, il existerait toutefois pour les pois des différences considérables d'après les variétés et l'état de maturité, en ce qui concerne la convenance pour l'irradiation (13) (14).

Les épinards irradiés ont une saveur différente de celle des épinards appertisés, mais cette saveur n'est pas jugée inférieure. La saveur des légumes soumis au traitement mixte est jugée égale ou légèrement inférieure à celle des légumes appertisés.

TABLEAU I

Résultats des examens organoleptiques

Asperges 1er *Essai*

Conditions de stockage		Moyenne des cotations : points / 10					
		1. Coloration			2. Saveur		
Température	Durée	15 j.	3 mois	6 mois	15 j.	3 mois	6 mois
0°C	Appertisation 25 min. 115,6°C	6.0	—	6.75	5.8	7.1	5.8
	Irradiation 2 Mrads	7.5	—	1.0	3.5	4.2	1.3
	Irradiation 0,5 Mrad + trait. thermique 15 min.115,6°C	5.5	—	4.1	7.0	7.1	4.7
20°C	Appertisation 25 min. 115,6°C	6.0	—	6.6	6.1	7.0	5.0
	Irradiation 2 Mrads	7.0	—	3.4	3.3	3.9	2.0
	Irradiation 0,5 Mrad + trait. thermique 15 min. 115,6°C	5.0	—	5.25	6.1	6.5	5.0

TABLEAU II

Résultats des examens organoleptiques

Asperges 2e *Essai*

Conditions de stockage		Moyenne des cotations : points / 10					
		1. Coloration			2. Saveur		
Température	Durée	15 j.	3 mois	6 mois	15 j.	3 mois	5 mois
0°C	Appertisation 25 min. 115,6°C	5.7	—	7.8	6.2	6.6	7.6
	Irradiation 2 Mrads	7.0	—	4.6	4.7	3.9	4.0
	Irradiation 0,5 Mrad + trait. thermique 15 min. 115,6°C	4.7	—	4.5	5.8	7.1	6.5
20°C	Appertisation 25 min. 115,6°C	6.0	—	7.3	5.8	7.1	7.8
	Irradiation 2 Mrads	5.0	—	4.7	3.8	3.1	2.9
	Irradiation 0,5 Mrad + trait. thermique 15 min. 115,6°C	5.8	—	6.4	7.2	6.7	7.4

TABLEAU III

Résultats des examens organoleptiques

Petits pois fins

Conditions de stockage		Moyenne des cotations : points / 10					
		1. Coloration			2. Saveur		
Température	Durée	15 j.	3 mois	6 mois	15 j.	3 mois	6 mois
0°C	Appertisation 15 min. 121,1°C	5.2	7.0	6.75	7.4	8.8	7.75
	Irradiation 3 Mrads	6.5	5.5	7.5	4.9	3.8	4.25
	Irradiation 1 Mrad + trait. thermique 9 min.121,1°C	8.7	8.0	7.0	6.1	6.9	6.1
20°C	Appertisation 15 min. 121,1°C	4.3	5.0	5.75	6.4	8.6	7.5
	Irradiation 3 Mrads	7.0	4.0	4.1	2.7	4.8	4.9
	Irradiation 1 Mrad + trait. thermique 9 min. 121,1°C	5.7	6.0	5.6	5.2	7.6	7.1

TABLEAU IV

Résultats des examens organoleptiques

Épinards d'Automne

Conditions de stockage		Moyenne des cotations : points / 10					
		1. Coloration			2. Saveur		
Température	Durée	15 j.	3 mois	6 mois	15 j.	3 mois	5 mois
0°C	Appertisation 30 min. 118,3°C	5.6	5.7	5.75	6.1	6.4	6.0
	Irradiation 2,5 Mrads	10.0	9.3	8.5	—	5.7	4.8
	Irradiation 1 Mrad + trait. thermique 15 min. 118,3°C	5.7	5.5	6.25	4.1	6.4	5.8
20°C	Appertisation 30 min. 118,3°C	4.8	5.7	6.75	5.2	6.5	5.0
	Irradiation 2,5 Mrads	7.8	5.0	4.25	5.3	6.5	5.0
	Irradiation 1 Mrad + trait. thermique 15 min. 118,3°C	5.7	5.5	5.0	4.5	6.9	5.4

c) *Influence du barème de stérilisation*

Quelle que soit la technique utilisée, la dégradation de la coloration et, dans une mesure moindre, celle de la saveur, sont d'autant plus élevées que le barème de stérilisation est élevé (14) (15).

Dans le cas de l'appertisation, la durée est à ce point de vue un facteur plus important que la température.

Dans le cas de l'irradiation, on ne dispose pas encore à l'heure actuelle de données précises sur l'influence respective de la durée et du flux gamma.

d) *Influence des conditions de blanchiment, d'emboîtage et de stérilisation*

Différents auteurs ont étudié les possibilités d'amélioration des résultats organoleptiques de l'irradiation, en modifiant les conditions classiques de fabrication. Ces recherches ont donné des résultats assez discordants.

D'après Proctor (16), le blanchiment en présence d'ascorbate de sodium permettrait, pour les pois, de porter le seuil de dégradation de 10^6 rep à 1.5×10^6 rep.

L'emboîtage sous vide (vacuum pack) ou sous azote, ainsi que l'irradiation à l'état congelé, permettent dans certains cas une meilleure préservation de la coloration (haricots verts) ou de la saveur (Broccoli) (17), mais sont sans effet pour les pois par exemple (14).

Les ajoutes d'acide ascorbique, d'acide ou d'aldéhyde pyruvique, ou de glutamate monosodique, sont sans effet utile dans de nombreux cas.

2. Influence des conditions de stockage

a) *Coloration*

Au cours du stockage, en fonction de la durée et de la température, se produit une dégradation de la coloration.

Ce phénomène est nettement plus accentué pour les légumes irradiés que pour les légumes appertisés.

Pour les asperges, on note l'apparition de reflets grisâtres et rosés.

La teinte des pois évolue vers le vert-grisâtre, celle des épinards vers le vert-brunâtre.

La coloration des légumes soumis au traitement mixte évolue au cours du stockage de façon nettement moins accentuée que celle des légumes irradiés, mais la dégradation est toutefois plus importante que celle constatée dans les produits appertisés.

b) *Saveur*

La saveur des asperges irradiées se dégrade au cours du stockage tandis que celle des asperges soumises au traitement mixte ne subit guère de modification.

La dégradation de la coloration et dans certains cas de la saveur des légumes irradiés, pourrait être due à des processus enzymatiques. On sait, en effet, que l'action des rayons gamma vis-à-vis des enzymes est faible. D'après certains travaux américains, pour les pois, une certaine régénération de l'activité enzymatique se produirait dans certains cas, lors du stockage après irradiation. Il y aurait analogie avec le phénomène de régénération constaté dans les conserves soumises à des barèmes courts à haute température (High-Short).

*
* *

IV. — Conclusions

L'irradiation à des doses élevées présente des inconvénients difficiles à surmonter dans l'état actuel des connaissances. Par contre, l'utilisation de techniques combinant les effets de l'irradiation et de la chaleur, présente un intérêt pour la stérilisation des légumes. Une irradiation préalable sensibilise en effet les spores des organismes thermorésistants à un traitement thermique. Le synergisme est moins marqué lorsqu'on inverse l'ordre d'application de ces deux modes de stérilisation. Le milieu légumes exerce toutefois un pouvoir protecteur dont il importe de tenir compte lors de l'établissement des barèmes de stérilisation mixte.

Le traitement mixte présente, par rapport à l'irradiation, des avantages incontestables au point de vue organoleptique : si la coloration est légèrement inférieure immédiatement après le traitement, par contre la saveur est généralement égale ou légèrement inférieure à celle des légumes appertisés.

D'autre part, la stabilité de la saveur et surtout de la coloration au cours du stockage est meilleure que celle des produits irradiés, sans être toutefois pleinement satisfaisante. Ce problème devrait être étudié au point de vue enzymatique.

A l'heure actuelle, l'amélioration obtenue ne paraît pas suffisamment stable pour conseiller dès à présent l'utilisation industrielle d'une telle technique.

BIBLIOGRAPHIE

(1) Horne T. et Bridges, B. A. *Int. J. Appl. Rad Isotopes*, 6, 100 (1959).
(2) Clarke, I. D. *Int. J. Appl. Rad Isotopes*, 6, 175 (1959).
(3) Schweigert, B. S. *Int. J. Appl. Rad Isotopes*, 6, 76 (1959).
(4) Morgan, B. H. et Reed, J. M. *Food Res.*, 19, 357 (1954).
(5) Kan, B., Goldblith, S. A. et Proctor, B. E. *Food Res.*, 22, 509 (1957).
(6) Kempe, L. *Appl. Microbiol.*, 3 346 (1955).
(7) Kempe, L., Graikoski, J. T. et Bonventre, P. F. *Appl. Microbiol.*, 5, 292 (1957).
(8) Kempe, L., Graikoski, J. T. et Bonventre, P. F. *Appl. Microbiol.*, 6, 261 (1958).
(9) Kempe, L., Graikoski, J. T. et Bonventre, P. F. *Appl. Microbiol.*, 7, 131 (1959).
(10) De Proost, M. et Piérard, A. Rapport C.E.N. : Blg 43 - R 1818 (1960) Rapport Inacol n° 256 (1960).
(11) Bolly, L. et De Proost, M. Résultats non publiés (1960).
(12) Sognefest, P. et Benjamin, H. A. *Food Res.*, 9, 234 (1944).
(13) Hannan, R. S. et Shepherd, H. J. (1953). Cité dans : R. S. Hannan : Special Rpt n° 61. Scientific and Technological Problems involved in using ionizing radiations for the preservation of food (1955).
(14) Gillies, R. A. *Food Res*, 24, 62 (1958).
(15) Bolly, L. & De Proost, M. Rapport Inacol n° 241 (1959).
(16) Proctor, B. E., Goldblith, S. A. et Nickerson, J. T. R.Prog. Rpt U.S. Navy Bureau of Supplies and accounts Con n° N 140 S-38817 B - Mass. Inst. of Technology (1953).
(17) Proctor, B. E., Lockhart, E. E. et Goldblith, S. A. Prog. Rpt U.S. Army Quartermaster Corps Con n° DA 44-109-QM 1746. Mass. Inst. of Technology (1954).

Résumé

Des essais ont été effectués afin d'évaluer l'intérêt d'un procédé combiné irradiation-stérilisation thermique pour la stérilisation des légumes.

Cette étude a porté sur la détermination des traitements à appliquer pour réaliser la destruction des spores du *Clostridium sporogenes* PA 3679 en milieu tampon phosphate. Il a été vérifié qu'une irradiation préalable opère une sensibilisation des spores à la chaleur. Cet effet est moins marqué lorsque l'on inverse l'ordre d'application de ces deux modes de stérilisation.

Les spores de cet organisme sont affectées de façon similaire en milieu légumes ainsi qu'en témoigne la décroissance de la thermorésistance dans ces milieux après pré-irradiation à des doses croissantes. Ce résultat a été vérifié pour les milieux pois, asperges et épinards.

Parallèlement à ces essais microbiologiques, l'appréciation des avantages du procédé combiné irradiation-stérilisation thermique a été complétée par la réalisation d'essais organoleptiques. Ces derniers essais ont comporté la préparation de conserves de pois, asperges et épinards. Les résultats obtenus par l'application du procédé mixte sont sensiblement égaux ou légèrement supérieurs (coloration) à ceux obtenus par stérilisation thermique. L'amélioration obtenue ne paraît pas suffisante pour justifier actuellement l'utilisation économique d'une telle technique.

Experiments on the use of gamma radiation for sterilizing vegetables

SUMMARY

Experiments have been carried out for assessing the importance of a combined irradiation heat sterilization process for sterilizing vegetables.

The object of this project was the determination of the treatments necessary for the destruction of *Clostridium sporogenes* PA 3679 spores in a phosphate buffer substrate. It was corroborated that irradiation prior to heat sterilization, makes the spores susceptible to heat. This effect is less marked when the order of application of the treatments is inverted.

These spores are similarly affected in vegetable substrate, as shown by a decreasing thermo resistance following irradiation at increasing dosage rates. These results were confirmed for pea, asparagus and spinach substrates.

Concurrently with those microbiological experiments, the possible advantages of this combined process were assessed organoleptically. These experiments included the manufacture of pea, asparagus and spinach preserves. The results obtained with the combination process are approximatly equal or slighthy superior (colour) to those obtained with heat sterilized preserves.

The resulting improvement does not, at present, appear to justify economically the application of this technique.

Versuch der Anwendung von γ-Strahlen bei der Gemüse-sterilisation

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden Versuche zwecks Prüfung des Wertes eines kombinierten Sterilisationsverfahrens — Bestrahlung — Hitze — Sterilisation — von Gemüse durchgeführt.

Diese Untersuchung stützte sich auf die Feststellungen der Versuche die mit PA 3679 im Phosphat-Puffer-Medium zwecks Zerstörung der Sporen von *Clostridium sporogenes* erhalten wurden. Es konnte nachgewiesen werden, dass eine vorangehende Bestrahlung eine Empfindlichkeit der Sporen gegen Wärme erzeugt. Diese Wirkung ist wenig ausgeprägt, wenn man die Anwendungsordnung dieser beiden Sterilisationsweisen vertauscht.

Die Sporen dieses Organismus verhalten sich im Gemüsemedium ähnlich und zeigen darin eine Verminderung der Wärmeresistenz in diesen Medien nach Vorbestrahlung mit erhöhten Dosen. Dieses Resultat wurde für Erbsen, Spargel und Spinat erhalten.

Parallel zu diesen mikrobiologischen Versuchen wurde zwecks Bewertung der Überlegenheit der kombinierten Methode — Bestrahlung-Hitze-Sterili ation durch organoleptische Versuche ergänzt. Diese letzteren Versuche umfassten die Herstellung von Erbsen-, Spargel- und Spinatkonserven. Die Resultate der Anwendung der kombinierten Methode sind etwa gleich oder etwas besser (Färbung) gegenüber der Hitze-Sterilisation. Die erhaltene Verbesserung erscheint jedoch gegenwärtig nicht gerechtfertigt für die Anwendung solch einer Technik für ökonomische Zwecke.

Les facilités pour des irradiations gamma au C.E.N. à Mol et leurs possibilités d'emploi dans l'agriculture et l'alimentation

par M. De Proost

Ingénieur chimiste et des industries agricoles,
Centre d'Étude de l'Énergie nucléaire, Mol (Belgique)

Un des plus grands effets de l'énergie nucléaire est de mettre à notre disposition une énorme quantité de sources de radiation.

Initialement, nous connaissions les rayons X et les rayons γ provenant du radium. Ceci est minime, comparé à nos connaissances actuelles. Les réacteurs nucléaires produisent une énorme quantité de matériaux neufs très radioactifs.

A la suite de la réaction nucléaire dans un réacteur, c'est-à-dire de la fission de l'uranium-235, il se forme toute une série de produits de fission. Parmi ces produits de fission, certains ont une section de capture très considérable pour les neutrons, à tel point qu'on doit les considérer comme poison nucléaire.

D'après la puissance de la pile et son utilisation, on doit envisager de remplacer le combustible nucléaire après un certain temps. L'activité totale d'un barreau sortant du réacteur est souvent de l'ordre de milliers de curies par kilo. Pour cette raison on préfère stocker d'abord l'uranium pendant une période prolongée avant de procéder à son traitement. Ce traitement consiste à récupérer l'uranium non utilisé ainsi que le plutonium.

Pendant cette période de stockage, on peut utiliser ces barreaux comme une source de radiation.

Après le reprocessing ou récupération de l'uranium et du plutonium, on obtient une solution de produits de fission qui, après concentration, peut être employée intégralement comme source d'irradiation ou qui, après un processus de séparation, donne deux sources d'irradiation importantes : Sr^{90} et Cs^{137}.

Schéma du processus de décroissance :

strontium^{90}
↓ t ½ = 28 ans
yttrium^{90} + 0,61 MeV β
↓ t ½ = 64 h
zirconium^{90} + 2,24 MeV β

césium^{137}
↓ t ½ = 27 ans
baryum^{137}
↓ + 0,5 MeV β
↓ + 1,17 MeV β
↓ t ½ = 2,6 min
baryum^{137} + 0,66 MeV γ

En plus des produits de fission, il existe des radioisotopes, produits par irradiation dans un réacteur. Ainsi le Co^{60} est formé par la réaction suivante : Co^{59} (n, γ) Co^{60}. Co^{60} émet des rayons d'une énergie de 1,17 et de 1,33 MeV ainsi qu'un rayon β de très faible énergie (0,31 MeV). La demi-vie du Co^{60} est de 5,25 ans.

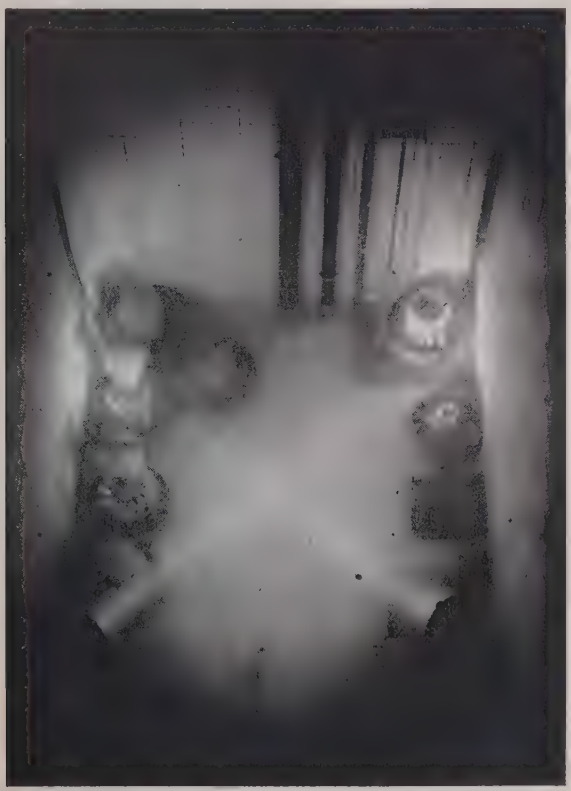


Fig. 1

1. — **Les Facilités pour des Irradiations Gamma au C.E.N.**

Le Centre d'Étude de l'Énergie Nucléaire à Mol dispose actuellement, pour les recherches d'irradiation gamma, des facilités suivantes : des éléments de combustible usés dans le chenal hydraulique du réacteur au graphite BR1, une cellule chaude et une source de cobalt de 5.500 c.

1. Les éléments de combustible

Les produits de fission dans les éléments de combustible usés procurent une source d'irradiation gamma. Les éléments de combustible sont des barreaux cylindriques d'uranium naturel, gaînés d'aluminium, d'une longueur de 20,3 cm et d'un diamètre de 2,54 cm.

La disposition générale est montrée dans la figure 1. Les irradiations sont effectuées dans le chenal de déchargement du BR1. La protection est assurée par 3 m d'eau.

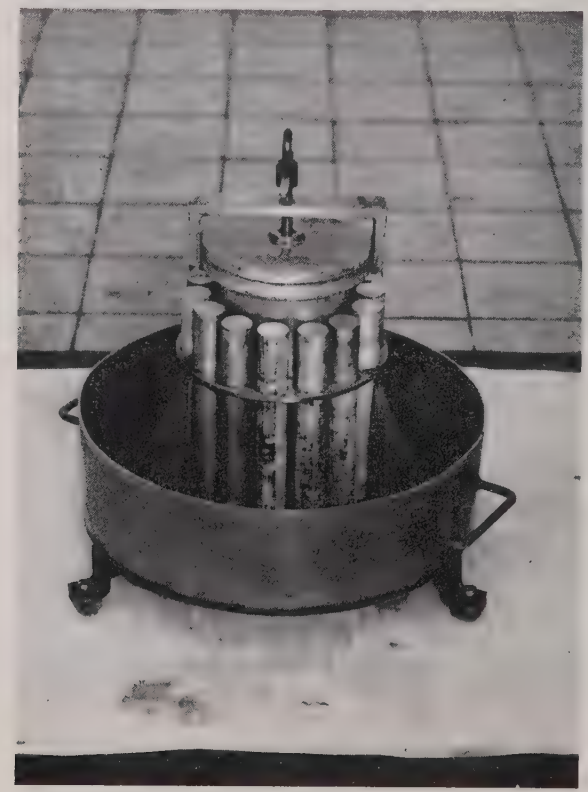


Fig. 2

Le ratelier d'irradiation est fabriqué en acier inoxydable et contient 14 éléments du combustible (figure 2). Ceux-ci sont placés verticalement dans un cercle de 15 cm de diamètre. L'espace entre les éléments de combustible constitue la cavité d'irradiation.

Les échantillons sont placés dans des cylindres en aluminium aux parois minces afin d'éviter le contact avec l'eau du chenal. Ces cylindres ont 28 cm de hauteur et 13 cm de diamètre. Pour assurer une exposition régulière aux rayons gamma, les barreaux d'uranium peuvent tourner lentement (2 tr/min) autour des cylindres d'irradiation.

Durant le temps de refroidissement des barreaux d'uranium, le flux maximum de gamma dans le cylindre d'irradiation peut varier de 20.000 à 3.000 roentgens par heure.

Le flux gamma est mesuré à l'aide de la méthode de dosimétrie au sulfate ferreux, et les changements de densité optique sont mesurés au moyen d'un spectrophotomètre après un temps d'irradiation bien défini.

2. La cellule chaude

Juste au-dessus du chenal hydraulique du réacteur, une cellule chaude à niveau intermédiaire a été érigée (figure 3). Cette facilité

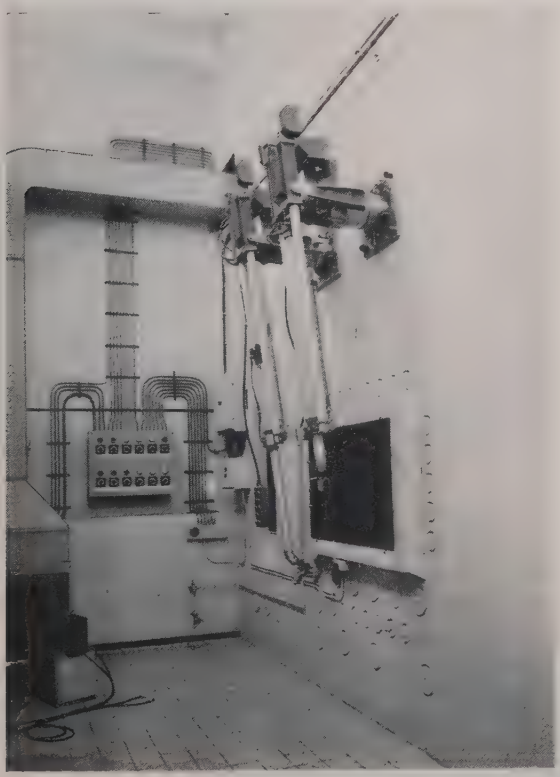


Fig. 3

peut être employée pour des irradiations spéciales avec du cobalt, de l'iridium et des éléments de combustible usés. Cette cellule a été construite pour des travaux au niveau d'environ 1.000 c gamma de 1 MeV.

La cellule chaude est équipée de deux « master slave manipulators » du modèle 8 d'Argonne, d'un système de ventilation, de deux fenêtres, l'une au bromure de zinc et l'autre en verre au plomb, et d'une table tournante afin de pouvoir apporter diverses pièces d'équipement sous les deux manipulateurs ; par des ouvertures échelonnées, munies de bouchons, on peut passer des conduites d'eau, d'électricité et de pression. Un extracteur de transfert permet l'introduction et l'extraction des matériaux pour l'irradiation. Un pont roulant de 2 t permet le transfert des sources du chenal hydraulique à la cellule.

3. Cellule gamma 220

Une source de cobalt a été achetée à l'« Atomic Energy of Canada Ltd ». L'activité initiale de 6.500 c est actuellement réduite à 5.000 c.

La cellule gamma figure 4 est une unité d'irradiation complète, munie de sa propre source de cobalt et d'une gaîne de protection. Elle est constituée d'un grand « container » en plomb équipé d'un tiroir vertical en plomb de forme cylindrique qui monte et descend au moyen d'un moteur électrique. Dans la partie centrale de ce cylindre se trouve la chambre d'irradiation. Quand le cylindre est dans sa position supérieure, cette chambre est accessible. Dans la position inférieure, elle est complètement entourée de la source de cobalt.

La chambre d'irradiation a un diamètre de 15 cm, une longueur de 20 cm et la dose au centre est de 5.10^5 roentgens par heure.

4. Projets

Dès à présent, une source gamma à haut flux est en construction. Elle sera installée dans le bâtiment principal du BR2, réacteur à haut flux pour les essais de matériaux, également en construction à l'heure actuelle.

Après utilisation dans ce réacteur, les éléments de combustible, hautement enrichis, serviront comme sources d'irradiation. Des doses maxima de l'ordre de 10^7 roentgens par heure sont attendues de cette unité. Nous espérons pouvoir employer cette facilité en 1961.

II. — Les Possibilités d'Emploi des Sources gamma dans l'Agriculture et l'Alimentation.

Les rayons γ émis par les radioisotopes sont très pénétrants et destructifs. Ces rayons ionisants peuvent provoquer soit des altérations, soit des destructions dans les organismes vivants.

Comme applications de cette action nous pouvons citer :

1. l'amélioration des plantes ;
2. la destruction des insectes dans la nature :
3. la conservation des denrées alimentaires.

Fig. 4.

1· L'amélioration des plantes

Les rayonnements γ constituent un moyen potentiel d'amélioration des races végétales. De nombreuses recherches ont été effectuées dans le domaine de la cytogénétique et de l'induction de mutations.

Les méthodes consistent soit en une irradiation des graines, des germes ou des grains de pollen au moyen d'une source γ, soit en une irradiation dans un champ d'irradiation γ. Ce dernier permet l'irradiation de plantes entières pendant des intervalles bien définis et à n'importe quel stade de développement.

2. La destruction des insectes dans la nature

Grâce à l'emploi des radiations γ les « vers à vis » (screwworm-fly-*Callitroga hominovorax*) sont pratiquement disparus en Floride et Curaçao. Ces mouches pondent leurs œufs dans des blessures ouvertes des animaux, et les larves provoquent des destructions si importantes dans le bétail, que la perte en Floride a été estimée à 10 millions de dollars par an (1).

Par une irradiation des « vers à vis » dans leur stade de nymphe à l'aide d'une source de cobalt, à une dose de $\pm$ 10.000 rads, ceux-ci devenaient tout à fait stériles. Des millions de mouches ont été stérilisées de cette façon et mises en liberté aux endroits contaminés.

L'accouplement de cette espèce n'a lieu qu'une fois par an. La chance pour qu'une femelle s'accouple avec un mâle stérile est proportionnelle au nombre de ces derniers parmi la population totale.

Par les mises en liberté d'un grand nombre de mâles stériles, on obtient une disparition complète de ces mouches à condition qu'il s'agisse d'une population isolée.

La technique de la stérilisation des mâles peut également se montrer utile pour combattre d'autres insectes tels que les cousins de la malaria, de la fièvre jaune, les calenders et les mouches tsé-tsé.

3. La conservation des denrées alimentaires

Le fait que l'irradiation détruit les tissus de pousses de produits végétaux, les insectes, les parasites et les micro-organismes, a conduit à envisager l'emploi des rayons γ comme une méthode susceptible pour la conservation des denrées alimentaires.

Les radiosensibilités relatives de divers types d'organismes vivants, sont (2) :

Hommes et animaux supérieurs	jusqu'à 1.000 rads
Tissus de pousse de produits végétaux	jusqu'à 10.000 rads
Insectes et leurs œufs	jusqu'à 50.000 rads
Bactéries ne formant pas de spores	jusqu'à 500.000 rads
Levures et moisissures	jusqu à 1.000.000 rads
Bactéries formant des spores	jusqu à 2.000.000 rads ou plus.

Jusqu'à présent les bactéries *Clostridium botulinum* sont considérées comme les bactéries les plus résistantes aux radiations. Dans certains produits alimentaires elles survivent à 2 Mrads (3).

Mais certains micro-organismes possèdent une radiorésistance inhabituelle. *Micrococcus roseus* (4), *alias radiodurans*, survit à des doses qui éliminent *Clostridium botulinum*.

Au symposium sur l'utilisation des rayonnements ionisants pour la préservation des denrées alimentaires, organisé par l'F.A.O. à Harwell (17-21 novembre 1958), il a paru commode de classer les diverses applications en trois catégories, correspondant aux doses de rayonnements à appliquer pour obtenir des effets déterminés :

a) traitements à faibles doses (50.000 rads ou moins) ;
b) traitements à doses moyennes (50.000 à 1 Mrad) ;
c) traitements à hautes doses (2 à 5 millions de rads).

Un traitement à faibles doses est suffisant pour inhiber la germination des pommes de terre et des plantes racines ; la désinfestation des céréales et la destruction de certains parasites de la viande, comme par exemple la *Trichinella spiralis* du porc.

La dose moyenne permet la destruction des *Salmonella* dans les œufs congelés ou en poudre et la prolongation de la durée de conservation des produits irradiés tels que les fruits, les légumes, la viande et le poisson. Cette prolongation est considérable uniquement quand les aliments radiopasteurisés sont entreposés à des températures suffisamment basses (0° à 5°C).

Les traitements à haute dose sont destinés à donner des denrées alimentaires stériles. La dose de stérilisation varie d'un aliment à l'autre, et on exige un degré d'inactivation pour le *Clostridium botulinum* de l'ordre de 10^{-12} (4). Ceci correspond pour la viande à une dose de stérilisation de 4,5 Mrads. Les doses d'un tel ordre de grandeur altèrent les qualités organoleptiques de la plupart des denrées alimentaires.

Conclusion

Les sources intenses constituent un outil nouveau et intéressant pour la recherche en agronomie et alimentation. Les chercheurs intéressés peuvent toujours faire appel au Centre d'Étude de l'Energie Nucléaire pour leurs programmes d'irradiation.

BIBLIOGRAPHIE

(1) Radioisotopes at work for Agriculture, SIRIA, 9 Oct. 1959.
(2) Hannan R. S., Coleby, B. *Nuclear Power*, 2, 9 (1957).
(3) Horne, T., Bridges, B. A. *Int. J. Appl. Rad. Isotopes*, 6, 100 (1959).
(4) Anderson *et al. Food Technol.*, 10, 575 (1956).
(5) European Meeting on the Microbiology of Irradiated Foods. Organisé par la F.A.O. à Paris (20-23 avril 1960).

Résumé

I. Le Centre d'Étude de l'Énergie Nucléaire dispose actuellement pour les recherches d'irradiations gamma, des facilités suivantes : des éléments de combustibles usés dans le chenal hydraulique du réacteur au graphite Br1, d'une cellule chaude et d'une source de cobalt de 5.000 C.

1. — *Les éléments de combustible.*

Les produits de fission dans les éléments de combustible usés procurent une source d'irradiation gamma.

Description de la disposition générale de cette unité d'irradiation.

2. — *La cellule chaude.*

Une facilité qui peut être employée pour des irradiations spéciales avec du cobalt, de l'iridium et des éléments de combustibles usés.

3. — *Cellule gamma « 220 ».*

Description de la source de cobalt de 5.000 c.

4. — *Projets.*

La construction d'une source gamma à haut flux.

II. Au projet de l'Agriculture et de l'Alimentation, ces sources gamma peuvent être employées dans les domaines suivants :

1) L'amélioration des plantes ;
2) La destruction des insectes dans la nature ;
3) La conservation des denrées alimentaires.

Gamma irradiation facilities at C.E.N. in (Mol) and their potential application in agriculture and the food industries

Summary

I. The « Centre d'Étude de l'Énergie Nucléaire » has at present available the following facilities for gamma irradiation : spent fuel elements in a water tank near the BR1 graphite reactor, a hot cell and a 5.000 cobalt source.

1. *The fuel elements.*

The fission products in the fuel elements provide a source of gamma radiation.

The general layout of this irradiation facility is described.

2. *The hot celle.*

A facility which is available for special irradiations with radioactive cobalt, iridium and spent fuel elements.

3. *Gamma cell « 220 ».*

Description of the 5000 curies cobalt source.

4. *Projects.*

Construction of a high level gamma source.

II. In agriculture and in the foodindustry these gamma sources may be used in the following fields of research :

1) Plant improvement ;
2) Insect control in the field ;
3) Food preservation.

Einrichtungen für die Gammabestrahlung bei C.N.E. in Mol und ihre Anwendungsmöglichkeiten in der Landwirtschaft und der Nahrungsmittelindustrie

ZUSAMMENFASSUNG

I. Das « Centre d'Étude de l'Énergie Nucléaire » verfügt gegenwärtig über folgende Einrichtungen für Gammabestrahlungen : Brennstoffelemente in einem Wasserbehälter neben dem Graphitreakter BR1, eine heisse Zelle und eine Kobaltquelle von 5.000 Curie.

1. *Brennstoffelemente.*

Die Spaltprodukte in den verbrauchten Brennstoffelementen sind eine Quelle von Gammastrahlen.

Allgemeine Beschreibung der Anlagen.

2. *Heisse Zelle.*

Eine Anlage, die bei Spezialbestrahlungen mit Kobalt, Iridium und verbrauchten Brennstoffelementen benützt werden kann.

3. *Gammazelle « 220 ».*

Beschreibung der 5.000 Curie Kobaltquelle.

4. *In Aussicht genommene Projekte.*

Konstruktion einer Gammaquelle von hohen Fluss.

II. Diese Gammaquelle können in der Landwirtschaft und in der Nahrungsmittelindustrie auf folgenden Gebieten angewandt werden :

1) Pflanzenverbesserung ;
2) Vertilgung von Insekten in der Natur ;
3) Nahrungsmittelkonservierung.

La production et l'utilisation des radioéléments en Belgique (*)

par R. Constant

Chef de la Section Radioisotopes du Centre d'Étude de l'Énergie nucléaire, Mol (Belgique)

Début 1958, le Centre d'Étude de l'Énergie Nucléaire, dont les laboratoires sont situés dans le nord de la Belgique, à Mol, a commencé la distribution commerciale des radioéléments artificiels que sa section des radioisotopes produisait jusqu'alors pour ses besoins internes.

Le but premier était de satisfaire les besoins nationaux et de permettre aux médecins, industriels et scientifiques belges de disposer des facilités et de la souplesse que la présence d'un producteur proche peut apporter dans tous les domaines.

Les irradiations

Nous disposons pour les irradiations d'un réacteur tout à fait classique (BR. 1) du type hétérogène à uranium naturel modéré au graphite, refroidi à l'air, qui permet l'utilisation d'un flux thermique maximum de 2.10^{12}n.cm^{-2} s.$^{-1}$. Les « trains isotopes » et les convoyeurs pneumatiques dont il est équipé rendent possible une exploitation très souple de ses possibilités.

Bientôt avec BR. 2 nous pourrons disposer de nouvelles et prometteuses facilités d'irradiation. Réacteur hétérogène à uranium enrichi à 90 %, modéré et refroidi à l'eau naturelle, il mettra à notre disposition des flux thermiques exceptionnellement élevés. On prévoit 6.10^{14} neutrons. cm^{-2}.s^{-1} dans le noyau et 2.10^{14} n.cm^{-2}.s^{-1} dans le réflecteur pour un fonctionnement de 50Mw. Ces flux tomberaient respectivement à 3 et 1.10^{14} pour un fonctionnement à 25 Mw de puissance thermique. La piscine elle-même permettra de disposer de volumes importants avec des flux de l'ordre de 1.10^{13} neutrons.cm^{-2}.s^{-1} ; nous y trouverons de larges possibilités d'irradiation pour la production d'isotopes tels que le Carbone^{14} par exemple. Des flux rapides pouvant atteindre 2.10^{15} neutrosn.cm^{-2}.s^{-1} dans le noyau le rendront particulièrement

(*) Communication présentée au V^{e} Congrès International sur l'Énergie Nucléaire de Rome (Juin 1960) et au Colloque International sur les Problèmes relatifs aux Applications des Radioisotopes (*Centenaire de l'Institut agronomique de Gembloux*, Août, 1960).

intéressant pour l'exploitation des transmutations, des réactions (n, 2n) etc.

BR.2 deviendra probablement un instrument de production de Cobalt-60 à haute activité spécifique. On pourrait en effet atteindre en 24 semaines dans le noyau, des activités de l'ordre de 50 curies par gramme pour un flux supposé de 3.10^{14} neutrons.cm^{-2}.s^{-1}.

Les méthodes de production

Actuellement les opérations de production proprement dites ne sont effectuées dans des installations fixes et spéciales que pour des isotopes suffisamment importants pour justifier l'immobilisation qu'elles représentent. Sont à considérer comme tels :

l'Iode^{-131}, le Phophore^{-32}, l'Or^{-198} à l'état colloïdal et le Soufre^{-35}

Nous disposons de méthodes évidemment adaptées à notre échelle de production. Les procédés de fabrication doivent toujours conduire à des solutions le plus directement utilisables pour des applications médicales, les médecins étant encore, comme nous le verrons plus loin, les gros consommateurs d'isotopes en Belgique.

Nous produisons l'*Iode*$^{-131}$ par une méthode très simple et très efficace que nous avons publiée en 1958 (1). Elle consiste à irradier de l'acide tellurique et à séparer l'iode^{-131} formé par une simple distillation après dissolution de la cible dans une solution aqueuse d'acide sulfurique. La méthode élimine les difficultés de dissolution de cible et rend possible l'obtention directe de solution d'iode^{-131} très pur, médicalement applicable sans purification additionnelle. Ce procédé simple joint à l'efficacité l'avantage incontestable de la rapidité.

Nous équipons actuellement une enceinte destinée à la production de *Phosphore*$^{-32}$ par une méthode d'extraction par solvant utilisant comme cible le soufre à l'état élémentaire.

Les Canadiens ont, depuis quelques années déjà, breveté certains procédés de production de P^{32} par extraction. Ils utilisent des monoacides gras et leurs anhydrides ou des solvants plus denses que l'eau (2, 3). En exigeant que le solvant choisi réponde à un certain nombre de critères tels que :

- dissoudre le plus de soufre possible par unité de volume et par unité de poids
- ne pas être d'utilisation dangereuse
- être peu coûteux, etc...

Nous en sommes arrivés à la conclusion qu'il semblait que c'était le toluène qui était le plus approprié. Son utilisation comme solvant du

soufre irradié nous permet d'extraire par l'acide chlorhydrique dilué, des solutions d'acide orthophosphorique de très haute activité spécifique sans que la présence de polyphosphates puisse être mise en évidence. Le rendement de la méthode est excellent : Il dépasse 80 % en une seule extraction. La méthode est particulièrement rapide puisqu'elle ne requière pas plus de 3 à 4 heures d'opération. Nous publierons incessamment une étude complète de ce procédé.

L'Or^{198} *à l'état colloïdal* est en Belgique, comme partout en Europe, d'un emploi très répandu. Nous venons de terminer, en collaboration avec le Professeur Maisin et le Docteur Wambersie de l'Université de Louvain, une étude de sa préparation et de ses applications (4). Nous avons notamment montré la nette supériorité de la méthode de R. Henry et coll. de Saclay (5). Cette méthode est basée sur le fait qu'il est indispensable, pour obtenir un colloïde régulier, que la phase de réduction, au cours de laquelle il y a formation de particules avec dimensions de 40 à 50A, soit séparée de la phase de croissance pendant laquelle les germes initiaux augmentent de dimension. La préparation comprend donc 2 étapes :

a) — la formation d'un germe (qui s'obtient en réduisant de l'acide chloraurique par le glucose).
b) — la formation du colloïde proprement dit, phase dans laquelle le germe ne sert qu'à constituer des centres de cristallisation.

Cette dernière méthode donne des colloïdes à micelles très régulières contrairement aux méthodes classiques de réduction par l'acide ascorbique ou par le glucose. La méthode de R. Henry présente cependant un léger inconvénient, conséquence de sa qualité : la présence d'un peu d'or ionique en quantité de l'ordre du pourcent, dont la subsistance au sein du colloïde est imputable à la douceur même de la réduction. Nos colloïdes d'or sont donc produits en appliquant intégralement cette méthode, mais en complétant la réduction par addition d'ascorbate de sodium. On obtient ainsi une solution colloïdale d'une qualité extrêmement satisfaisante dont la grosseur des micelles se situe toujours aux environs de 300 A et quasi totalement dépourvue d'or ionique.

Le Soufre^{35} sans entraîneur isotopique est produit en même temps que le Chlore^{36} par une méthode dérivant de celle de Rupp, décrite à la Conférence de Genève de 1955 (6, 7). Elle consiste à effectuer la séparation cations-anions du KCl irradié par échange d'ions. Le Soufre^{35} qui, après dissolution de la cible dans l'eau, est à l'état de $^{35}SO_4^=$ se retrouve dans une solution de HCl^{36} dont il sera séparé par simple distillation.

Nous dirons encore quelques mots de la production du *Cr*^{51} *pour utilisation médicale*. Nous le produisons de façon classique en exploi-

tant l'effet Szilard-Chalmers sur un chromate. Nous avons assez longuement étudié l'influence des activités spécifiques des produits obtenus en fonction de la position d'irradiation dans le réacteur. En effet, il est bien connu que la durée d'irradiation, le niveau du flux et la température ont une influence prépondérante. Nous avons surtout essayé de voir, pour les conditions ci-dessus maintenues constantes, quelle était l'influence du flux neutronique rapide et du flux gamma. Nous avons ainsi pu déterminer que c'est principalement, et pour ainsi dire presque exclusivement, le « fond » gamma qui entraîne l'apparition du chrome inactif, c'est-à-dire qui fait tomber l'activité spécifique.

En ce qui concerne les *sources d'irradiation*, nous produisons de petites sources de Cobalt-^{60} et d'Iridium-^{192} pour gammagraphie et usages industriels en général. Nous commençons également à produire des sources de Césium-^{137}.

Nous avons récemment commencé la production de sources de Krypton-^{85} pour usage industriel. Elles semblent spécialement appréciées pour l'élimination des charges statiques bien que leur efficacité par unité de surface soit amplement inférieure aux classiques sources de radium. Ceci est dû au fait que l'on peut utiliser sans danger, par suite de ses propriétés chimiques, de beaucoup plus grandes quantités de Krypton-^{85}. De plus, l'absence de rayonnement gamma rend les protections plus aisées et moins coûteuses. Cet ensemble de qualités, allié à son prix relativement bas, lui assure pour l'avenir un avantage certain, tant sur le radium que sur le polonium.

La production générale de ces radioisotopes est doublée d'un groupe assurant la production de composés organiques marqués au carbone-^{14} et au tritium.

Contrôles physiques, chimiques et biologiques de la production

La production des radioisotopes en général et surtout de ceux d'entre eux qui sont le plus spécialement destinés à des usages médicaux subissent des contrôles destinés à s'assurer de leur pureté et des activités spécifiques des solutions. Chaque solution mère résultant d'une opération de production est soumise à un contrôle :

— de spectrométrie γ
— de comptage 4 π

et de tout test susceptible de garantir la pureté radiochimique, l'état valentiel de l'élément radioactif considéré, etc. etc... Nous utilisons énormément, pour ce genre de contrôle, les techniques de chromato-

graphie sur papier. C'est ainsi que pour les examens des solutions de P^{32} et des colloïdes d'Au^{198}, nous avons adopté les méthodes que Cohen a publiées en avril 1959 dans les *Annales Pharmaceutiques Françaises*, journal publiant les procès-verbaux de l'Académie de pharmacie (8).

La loi belge sur la distribution et la vente des médicaments nous oblige à faire subir à nos préparations un certain nombre de contrôles qui sont effectués sous la responsabilité d'un pharmacien d'industrie directement attaché au service. Vient donc s'ajouter au contrôle, préalablement décrit, une gamme de tests pharmaceutiques portant principalement sur l'absence de pyrogènes, la stérilité et l'isotonicité. Il va sans dire que l'application de cet ensemble de contrôle exige très souvent un temps qui est incompatible avec les caractéristiques radioactives des solutions. Nous pourrions même dire qu'elle est en opposition fondamentale avec la tendance à l'utilisation d'isotopes de périodes de plus en plus courtes. Or l'utilisation de « vies courtes » présente de sensibles avantages du point de vue de la limitation du danger de contamination ; il ne peut donc être question de les négliger. D'autre part, il y a intérêt à ce que le malade ne constitue pas une source permanente d'irradiation pour son entourage. On se trouve donc devant un problème double dont les solutions semblent incompatibles. Un tel problème réclame évidemment des solutions particulières qui ne peuvent être élaborées que par une large collaboration des divers spécialistes intéressés.

Le mercredi 25 mai de cette année est paru au *Moniteur Belge* un Arrêté Royal en date du 12 avril 1960 relatif à la détention et à l'utilisation de substances radioactives à des fins médicales (9). Cet arrêté limite la détention et l'utilisation des radioisotopes aux médecins autorisés par le Ministère de la Santé Publique et de la Famille. Pour être autorisé, un médecin doit prouver sa compétence en fournissant une attestation de la Faculté de Médecine d'une des universités belges et faire preuve qu'il dispose, dans un hôpital ou dans une clinique, de locaux réservés et spécialement adaptés. Cet arrêté oblige également les médecins à déterminer la nature des rayonnements émis et à procéder à des mesures d'activités spécifiques avant utilisation. Ils doivent identifier les radionuclides en présence, à moins que les substances radioactives n'aient été délivrées avec attestation de conformité par un pharmacien attaché à la firme productrice ou distributrice. Cette loi permet évidemment un contrôle extrêmement efficace de l'utilisation des radioéléments et permettra vraisemblablement de prévenir des abus. Il serait cependant vain de se cacher qu'elle réclamera des médecins des connaissances et une instrumentation qu'il leur sera dans

bien des cas presque impossible de rassembler (s'ils doivent, comme le précise la loi « déterminer la nature des rayonnements émis, identifier les radionuclides en présence ainsi que procéder à leur mesure »).

Comme actuellement, à notre connaissance, peu de producteurs délivrent des attestations de conformité pharmaceutique, le Centre belge sera probablement obligé d'apporter une aide au médecin en effectuant des contrôles qui permettront d'attester de la conformité de la préparation.

Statistiques de production

La Belgique utilisait des radioéléments artificiels bien avant qu'elle puisse disposer d'un centre de production sur son territoire. A titre purement exemplatif, nous soulignerons qu'en 1955 et pendant le premier semestre de 1956 près de 700 préparations ont été distribuées. Pendant cette période de temps les isotopes les plus souvent demandés étaient dans l'ordre :

I^{131}	(289 demandes)
C^{14}	(90 »)
Au^{198}	(79 »)
P^{32}	(75 »)
Fe^{59}	(30 »)

Pendant sa première année d'activité le service des radioisotopes du C.E.N. a satisfait à plus de 600 demandes représentant une activité totale dépassant les 130 curies et comprenant 29 isotopes différents. En 1958, l'approvisionnement de la Belgique en radioéléments a nécessité plus de 1300 livraisons représentant un total de l'ordre de 700 curies. Une activité aussi élevée est jutifiée par de grosses livraisons de tritium et de cobalt-60.

1958, rappelons-le, fut la première année d'activité du service des radioisotopes du C.E.N. Nous avons satisfait pendant cette période de l'ordre de 47 % du nombre de livraisons correspondant approximativement à 20 % de l'activité totale utilisée.

En 1959, les nécessités d'approvisionnement ont atteint les 1800 livraisons (soit une augmentation de près de 40 % par rapport à 1958). Par contre l'activité distribuée ne dépassa pas 100 curies. Pour cette deuxième année d'activité, nous avons satisfait par nos propres livraisons plus de 65 % de la demande représentant plus de 50 de % l'activité utilisée. Nous avons ainsi, en un an, presque doublé le nombre de livraisons, développant non seulement les productions existant en 1958, mais en mettant au point de nouvelles préparations parmi lesquelles :

— le Cr^{51} à haute activité spécifique
— l'Y^{90} sous forme d'oxyde, en grains, pour implantations médicales
— le K^{42} en solution isotonique stérile
— les cibles de tritium sur titane
— les sources de Kr^{85} pour usage industriel
— l'Ir^{194} en grains, pour implantations médicales, qui s'est avéré particulièrement intéressant, non seulement pour l'expérimentation animale, mais également en clinique humaine, pour la destruction sélective d'une zone déterminée de tissus nerveux. Les résultats de ces travaux viennent d'être tout récemment publiés (10).

Le nombre de livraisons a continué à croître très rapidement pendant le premier trimestre 1960. Il a en effet atteint les 600 unités, dont nous avons livré plus de 80 %.

Si nous analysons quelque peu le marché belge, nous voyons que s'il s'amplifie d'une manière satisfaisante, il ne se modifie pas fondamentalement. Si nous examinons par exemple une classification des isotopes produits et distribués par ordre d'importance décroissante sous l'angle du nombre de livraisons et sous celui des activités produites, nous obtenons les résultats de la Table I

TABLE I

Classification par ordre d'importance décroissante des expéditions effectuées

1955 + 1er semestre 1956		1958		1959		1er semestre 1960	
Radio-isotope	Nombre d'expéd.	Radio-isotope	Nombre d'expéd.	Radio-isotope	Nombre d'expéd.	Radio-isotope	Nombre d'expéd.
I^{131}	289	I^{131}	300	I^{131}	469	I^{131}	133
C^{14} (sous toutes ses formes)	90	Au^{198} (en grains)	168	Au^{198} (en grains)	326	Au^{198} (en grains)	113
Au^{198} (en grains et sous forme colloïdale)	79	P^{32} (sans entraîneur isotopique)	46	P^{32} (sans entraîneur isotopique)	110	Au^{198} (colloïdal)	44
P^{32}	75	Na^{24} (solution isotonique stérile)	28	Na^{24} (produit par simple irradiation)	49	P^{32} (sans entraîn. isotop.)	39
Fe^{59}	30	S^{35} (sans) entraîneur isotopique)	11	Ir^{194} (en grains pour implantations médic.)	30	K^{42} (en solution isotonique stérile)	24

L'examen de cette table confirme l'importance de l'I^{131} et celle de l'Au^{193} sous toutes ses formes. Il permet également de se rendre compte que la médecine fut et reste en Belgique le seul grand consommateur de radioéléments.

L'examen de la Table II montre qu'elle a absorbé 75 % du nombre d'expéditions et plus de 80 % de la radioactivité distribuée.

TABLE II

Répartition des livraisons pendant l'année 1959 (*)

	Médecine et recherches médicales	Industrie et Recherche	Agriculture	C.E.N.
Nombre d'expéditions en %	75	13	2	10
Activité distribuée en %	83	9	—	8

(*) Moyenne des répartitions mensuelles.

La Table III indiquerait peut-être une légère amélioration en ce qui concerne le nombre d'applications dans l'industrie et dans la recherche, mais nous croyons prudent d'attendre la fin de cette année avant de nous prononcer.

On pourrait se demander pourquoi le développement des utilisations dans l'industrie ne suit pas l'accroissement spectaculaire que l'on rencontre dans d'autres pays. Les causes sont probablement complexes mais il est possible qu'elles soient imputables aussi bien à un manque d'organisation qu'aux caractères propres de l'industrie nationale.

On peut également constater le petit nombre des applications à l'agriculture, qui ne dépasse pas 2 % du nombre total d'expéditions

TABLE III

Répartition des livraisons pendant le 1er trimestre 1960 (*)

	Médecine et recherches médicales	Industrie et Recherche	Agriculture	C.E.N.
Nombre d'expéditions en %	68	20	2	10
Activité distribuée en %	74	15	—	11

(*) Moyenne des répartitions mensuelles.

et une fraction négligeable de l'activité distribuée. Bien que cette fois le mal semble plus général (d'autres pays ayant déjà signalé le fait) nous devons espérer que l'intérêt de cette branche importante de l'économie ne fera que croître.

Nous terminerons en signalant qu'en 1959 nous avons effectué quelques exportations représentant en moyenne (sur les 12 mois de l'année) 4 % du nombre total d'expéditions et 3 % de l'activité distribuée. Pendant le 1er trimestre 1960, ces valeurs sont passées respectivement à 4 et à 9 %.

BIBLIOGRAPHIE

(1) Constant, R. *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **7**, pp. 133-139 (1958).
(2) Canada Patent n° 483758 (June 3 - 1952).
(3) Canada Patent n° 497624 (Nov. 10 - 1953).
(4) Constant, R., Maisin, J., Vanderlinden, P., Wambersie, A. En cours de publication.
(5) Henry, R., Herzeck, C., Fisher, C. *Int. J. Appl. Rad. and Is.*, **2**, p. 136 (1957).
(6) Rupp, A. F. Conférence de Genève 1955, P/314.
(7) Constant, R. C.E.N. Bruxelles. Blg 15 (1958).
(8) Cohen, Y. *Ann. Pharm. Fr.*, tome XIV, n° 4, pp. 250-260 (1959).
(9) *Moniteur Belge*, n° 125 du 25 mai 1960, p. 3936-3939.
(10) Wambersie, A., Maisin, J., Brucher, J. M., Constant, R. *J. Belg. Rad.*, XLII, pp. 688-709 (1959).

Résumé

Pour faciliter les besoins nationaux en radioisotopes, le Centre de Mol possède pour les irradiations un réacteur (Br.1) et pourra bientôt disposer du Br. 2 à haut flux neutronique.

Des installations fixes et spéciales existent pour la préparation de l'Iode 131. Le Phosphore 32, l'Or 198 à l'état colloïdal et le Soufre 35.

Le Centre produit également des sources d'irradiations : Cobalt 60, Iridium 192, Césium 137, ainsi que du Krypton 85 pour l'élimination des charges statiques dans certains domaines de l'industrie.

Les radioisotopes produits sont soumis à des contrôles physiques, chimiques et biologiques surtout pour ceux d'entre eux spécialement destinées à des usages médicaux.

Quelques données sur la statistique de la production montrent l'importance relative des divers isotopes et la répartition des livraisons dans la recherche et la pratique médicale, l'industrie et la recherche afférente, l'agriculture et le C.E.N.

Production and use of radioelements in Belgium

SUMMARY

In order to meet the national requirements in radioisotopes, the Mol-centre is provided with a reactor (Br. 1) available for irradiations, and will be operating, in the near future, a high neutron flux reactor (Br. 2).

Stationary and special equipment is available for iodine 131, phosphorus 32, gold 198 (colloidal) and sulfur 35 production.

The Centre also provides irradiation sources : Colbalt 60, Iridium 192, Caesium 137 and Krypton 85 for eleminating static charges in certain industrial applications.

The radioisotopes undergo physical, chemical and biological control, especially those intended for medical purposes.

Production statistics illustrate the relative importance of the various isotopes and the distribution of supplies over the various fields, i.e. medical research and practice, industry and connected research, agriculture and the C.E.N.

Erzeugung and Verwendung radioaktiver Elemente in Belgien

ZUSAMMENFASSUNG

Um dem Landesbedarf an Radioisotopen leichter nachzukommen, ist das Centre de Mol mit einem Reaktor (Br. 1) zwecks Bestrahlungen ausgestattet worden und wird bald in der Lage sein, über das Br. 2 mit hohem Neutronenstrom zu verfügen.

Es sind dauerhafte Spezialeinrichtungen für die Erzeugung von Jod 131, Phosphor 32, Gold 198 im kallodialen Zustand, und Schwefel 35 vorhanden.

Die Station erzeugt auch folgende Strahlungsquellen : Cobalt 60, Irridium 192, Caesium 137 sowie Krypton 85 zwecks Beseitigung statischer Belastungen auf manchen Gebieten der Industrie.

Die erzeugten Radioisotope werden physikalisch, chemisch und biologisch kontrolliert, besonders diejenigen, die für medizinische Zwecke verwendet werden.

Einige statistische Daten bezüglich der Erzeugung zeigen die Bedeutung der verschiedenen Isotope und die Verteilung der Lieferungen innerhalb der medizinischen Forschung und Praxis, der Industrie und ihrer Forschung, der Landwirtschaft und des C.E.N.

La mesure de l'humidité et de la densité des sols à l'aide des sondes émettrices de neutrons ou de rayons γ

par P. Pélegrin et L. A. Buscarlet
Département de Biologie, Commissariat à l'Énergie Atomique, Saclay (France)

La connaissance de l'humidité des sols est un problème d'une importance considérable en Agronomie. La vocation culturale d'un sol est en étroite relation avec la quantité d'eau qu'il peut céder aux plantes.

En climats tempérés du type européen, bien souvent les conditions de culture en liaison avec l'eau sont satisfaisantes. Par contre en pays sec, ou également dans les régions tropicales ou équatoriales trop humides, on rencontre des cas limites qui justifient une étude spéciale de l'eau dans le sol.

Quelques exemples illustreront ces idées.

L'irrigation par aspersion, pratique coûteuse mais utile lorsque l'on a quelque difficulté à irriguer normalement, doit être convenablement conduite pour être profitable. Le bilan de l'eau dans le sol doit être suivi avec attention.

En région tropicale sèche, par exemple au Sénégal ou au Soudan ex anglo-égyptien, on doit irriguer le riz ou le coton et l'eau est sinon rare, du moins d'un prix de revient élevé. De plus le sol souvent argileux doit être humecté assez tôt pour éviter qu'il ne se dessèche trop et que les crevasses qui en résulteraient ne cassent les racines.

Au Sénégal également, la culture du riz en Casamance est pratiquée en particulier le long des rivières ; l'eau y est saumâtre. La technique culturale, que les indigènes connaissent d'ailleurs bien, consiste à assurer en permanence un certain lessivage du sol, même avec cette eau saumâtre. Le niveau de sel ne remonte alors pas et le riz, plante tolérante au sel, s'en accommode. Le problème ici consiste à suivre la variation de la nappe phréatique.

Citons enfin un exemple particulier, propre à la moyenne Guinée : les agrumes greffés fleurissent à contre-saison si on modifie le rythme d'irrigation. La connaissance du bilan de l'eau permet d'orienter la production plusieurs mois à l'avance.

Cet aperçu général, qui a permis de montrer quelle importance revêt le problème qui va être traité, conduit à diviser notre exposé en 3 parties :

— D'abord un rappel des théories relatives à la circulation de l'eau dans le sol et à l'évapo-transpiration.

— Ensuite la description du principe des sondes à neutrons et aussi de celles à rayons γ pour les études de densité.

— Enfin une étude des divers types d'appareils existants ainsi que des perspectives d'avenir.

Rappel des notions de base sur le potentiel de l'eau dans le sol

C'est à M. Hallaire que nous emprunterons l'essentiel de ce chapitre. Nous verrons que les problèmes relatifs à l'eau dans le sol peuvent se ramener à l'étude des profils hydriques.

Ces profils hydriques peuvent être établis en prélevant des échantillons de sol à des profondeurs variables ; on en détermine à l'étuve l'humidité. Ces manipulations amènent à creuser des fosses ou à faire des sondages modifiant la structure du sol. Ceci ne permet pas des prélèvements ultérieurs dans des conditions identiques.

Les résistivimètres, utilisant les éléments de plâtre ou de nylon, sont apparus il y a quelques années. La mise en équilibre de ces appareils, leur précision relative, leur mauvais fonctionnement en sol trop sec ou trop humide ont amené beaucoup de chercheurs à renoncer à leur emploi.

L'apparition des sondes à neutrons, dont la mise au point est maintenant satisfaisante, permet de faire dans cette science du sol un pas en avant très important.

L'état de l'eau dans le sol et l'alimentation en eau des végétaux

1. — Généralités sur les rapports de l'eau et du sol

La dose d'irrigation qu'il est nécessaire d'appliquer à une culture ne peut être calculée de façon précise qu'en connaissant l'évolution de l'humidité dans le sol, et celle des réserves en eau du sol.

L'étude des profils hydriques renseigne sur cette évolution de l'humidité. Les réserves d'eau exploitables par les plantes sont déterminées par l'écart entre le point de flétrissement et la capacité de rétention.

Rappelons que la capacité de rétention est la valeur de H (taux d'humidité) pour laquelle les forces capillaires sont suffisantes pour s'opposer à l'entraînement de l'eau par gravité.

Le point de flétrissement permanent est l'humidité présentée par le sol au moment où les plantes fanent au point de ne plus pouvoir reprendre leur turgescence lors d'une réhumectation ultérieure du sol.

Le profil hydrique est la courbe donnant l'humidité du sol H en fonction de la profondeur Z. Le taux d'humidité H exprimé en g d'eau pour 100 g de terre sèche, permet d'évaluer la masse d'eau présente dans une épaisseur donnée de terre.

Pour expliquer certains phénomènes relatifs à la circulation de l'eau dans le sol et la disponibilité de l'eau pour le végétal, on fait intervenir une autre grandeur, le potentiel capillaire.

Le potentiel capillaire représente le travail nécessaire pour extraire du sol l'unité de masse d'eau.

Désigné par la lettre ψ il est exprimé en g-cm par g d'eau.

La variation du log ψ (c'est-à-dire le pF) en fonction du taux d'humidité H est représentée par une courbe (Fig. 1) qui peut différer considérablement d'un sol à l'autre, et qui est, par conséquent, caractéristique d'un sol donné.

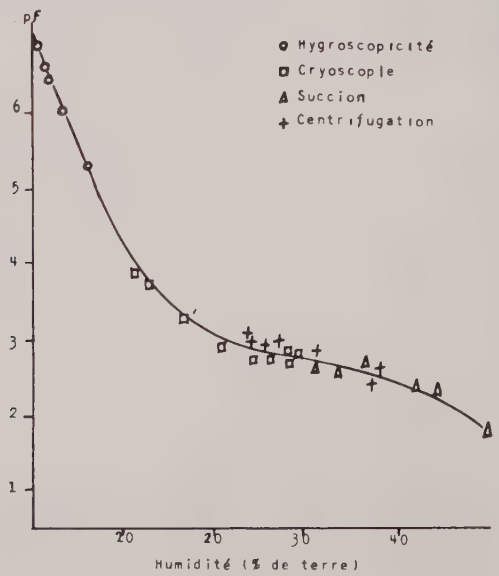


FIG. 1

L'intérêt que présente cette notion de potentiel capillaire peut être illustré par deux exemples :

1) Nous avons parlé précédemment de capacité de rétention et de point de flétrissement. La capacité de rétention correspond à des humidités allant de 5-7 % à 40 % selon la nature du sol.

Le point de flétrissement permanent correspond à des humidités de 2 à 20 %.

Bien que ces taux d'humidité varient beaucoup avec la texture du sol ils correspondent à des valeurs de ψ assez constantes. C'est ainsi que la capacité de rétention ψ est voisine de 300 g-cm/g., et que le point de flétrissement permanent ψ est de l'ordre de 15-16 000.

2) Citons un deuxième exemple :

La diffusion capillaire de l'eau dans le sol est déterminée par la variation du potentiel capillaire, ce qui explique que dans un sol hétérogène constitué par exemple par un limon reposant sur du sable, l'eau diffusera du sable à 8 % d'humidité vers le limon à 15 %.

Ce fait peut être illustré par l'examen des profils hydriques en période de dessèchement, dans un sol hétérogène. Ces profils H (Z) présentent des formes capricieuses, tandis que le potentiel capillaire exprimé ici par log (ψ - 1000) offre une décroissance continue et régulière avec la profondeur (voir figure 2).

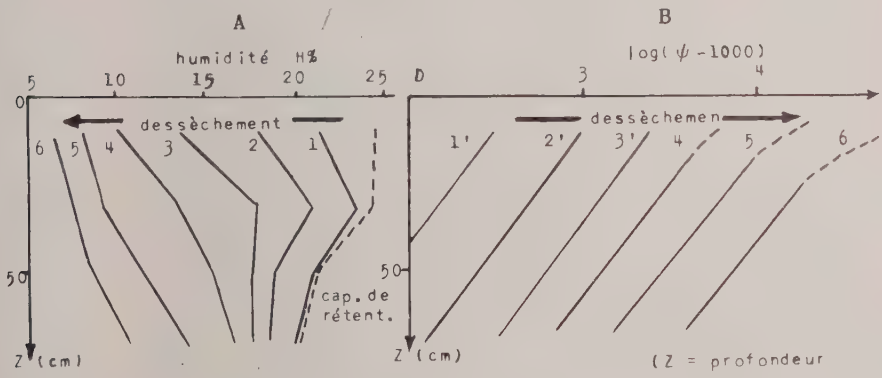


Fig. 2

Selon les derniers travaux de M. Hallaire la diffusion capillaire de l'eau dans le sol n'obéit plus à cette loi lorsque le sol est soumis à une évaporation ; on se trouve alors dans des conditions de régime variable. Les conditions de réversibilité ne sont donc plus satisfaites et les formules de thermodynamique classique ne sont plus valables.

En effet, dans ce cas, le déplacement général du réseau liquide suit d'autres lois, il est indépendant du signe et de la valeur du gradient d'humidité. L'eau peut se déplacer des couches sèches vers les couches plus humides (Fig. 3).

II. — L'alimentation en eau des cultures

Sur les quantités d'eau prélevées par la plante dans le sol une partie est stockée pour constituer la matière végétale, une autre est cé-

dée à l'atmosphère par transpiration, la partie stockée représentant une très faible proportion des quantités absorbées.

On utilise pour évaluer les besoins maxima en eau, la notion *d'évapo-transpiration potentielle* définie comme étant la somme de l'évaporation et de la transpiration au sein d'une végétation homogène verte se développant sur un sol abondamment pourvu d'eau.

Ainsi définie, c'est une grandeur indépendante de la nature du couvert végétal, puisque l'évaporation et la transpiration se ramènent finalement à une évaporation de l'eau ; on sait que ce phénomène consomme 600 cal/g.

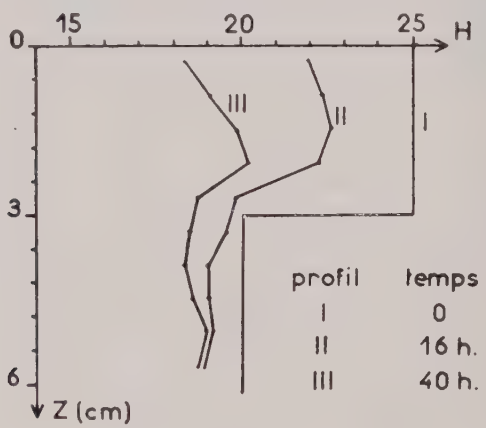


Fig. 3

L'évapo-transpiration *réelle* est donnée par la somme des précipitations et de la hauteur d'eau en mm qu'il faudrait fournir au sol pour que l'humidité du sol soit ramenée, du niveau où elle se trouve, à celui de la capacité de rètention au champ.

Le déficit total en eau du sol est déduit des profils hydriques donnant H aux différentes profondeurs Z.

La comparaison des évapo-transpirations potentielle E_c et réelle E_o permet d'apprécier si une alimentation hydrique est normale ou déficiente.

Dans ce dernier cas, dès que E_o devient inférieure à E_c sous l'effet de la sécheresse du sol, on constate que le déficit en eau du sol devient pratiquement constant ce qui indique que l'évapo-transpiration réelle est limitée dès lors aux seules valeurs des précipitations.

III. — Les conditions d'humidité du sol correspondant a une alimentation déficiente en eau

Au moment où la plante semble incapable à accroître le déficit en eau du sol, on obtient des profils hydriques traduisant des conditions de dessèchement maximum et qui atteignent le point de flétrissement à une profondeur variant entre 30 et 90 cm pour des plantes annuelles. Cette profondeur critique au-delà de laquelle l'humidité ne peut pas atteindre le point de flétrissement semble pouvoir caractériser la profondeur utile du système radiculaire.

La figure 4 montre une corrélation entre le taux de racines et l'importance du dessèchement maximum du sol.

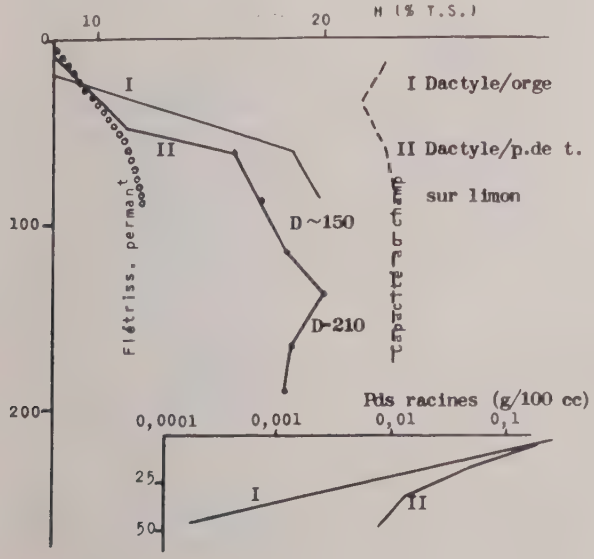


Fig. 4

Ainsi on peut évaluer le déficit maximum en eau du sol, c'est-à-dire les réserves utiles à la plante en tenant compte des facteurs suivants :

— profondeur utile du système radiculaire
— densité apparente du sol sec et fin
— écart capacité de rétention — point de flétrissement
— déficit des couches profondes dû à la diffusion capillaire de l'eau et qui dépend notamment de la pente caractéristique du profil H (Z).

Principe des sondes

On utilise, pour la mesure de l'humidité, des sondes à neutrons et pour celle de la densité des sondes à rayons γ. Ces dernières sondes servent plus spécialement aux services de travaux publics pour étudier les bétons des barrages, aérodromes etc. Nous y reviendrons plus loin.

1°) Principe d'une sonde a neutrons.

Une telle sonde se compose essentiellement d'une source de radium-beryllium. Les rayons α émis par le radium agissent sur le beryllium selon la réaction :

$$^{4}_{2}\mathrm{He} + {}^{9}_{4}\mathrm{Be} \longrightarrow {}^{12}_{6}\mathrm{C} + {}^{1}_{0}\mathrm{n} + 5{,}3\ \mathrm{MeV} + Q$$

ainsi il y a émission de neutrons.

Ces neutrons rapides sont ralentis en neutrons thermiques en présence de l'hydrogène de l'eau. Or, c'est essentiellement l'eau qui dans le sol provoque ce ralentissement des neutrons par choc élastique sur l'hydrogène ; la perte d'énergie est en effet d'autant plus grande que la masse atomique de l'élément rencontré est plus petite. Ainsi le coefficient d'absorption massique aux neutrons thermiques de l'eau (de 3,51 cm^2/g) est beaucoup plus élevé que celui de tous les éléments constitutifs du sol (qui varient de 0,03 pour l'Aluminium à 0,25 pour le Carbone)

Il est intéressant de noter que les coefficients d'absorption totale aux neutrons thermiques calculés additivement sont à peu près les mêmes pour les divers types de sols. A titre d'exemple, ce coefficient est de 0,109 cm^2/g pour du sable de Fontainebleau. Sa valeur est la même pour du limon de Versailles.

Remarquons que le chlore a un coefficient d'absorption massique de 0,814 et qu'en fortes proportions les chlorures pourraient être gênants dans la mesure de l'humidité.

La mesure des neutrons lents permet de connaître la quantité totale d'eau contenue dans un volume de sol.

Pour effectuer cette mesure on dispose de 2 méthodes :

a) *Méthode par rétrodiffusion = thermalisation-diffusion.*

La méthode consiste à compter les neutrons thermiques après rétrodiffusion des neutrons rapides par l'hydrogène de l'eau.

On peut citer 3 techniques de mesure.

— Dans la première, aujourd'hui abandonnée, on utilisait le fait que les neutrons thermiques sont capables de provoquer une radioactivité induite sur certains corps.

J. Brocard qui, en France, a construit un premier prototype, utilisait une feuille d'indium enroulée entre 2 cylindres en cadmium (fig. 5). Il travaillait, avec des neutrons épithermiques, d'une énergie voisine de 1 eV, et profitait ainsi d'un pic de résonance (situé à 1 eV) de la section efficace de l'indium, comme l'indique la figure qu'il a publiée (fig. 6). Ainsi ne sont mesurées que les énergies égales ou supérieures à l'électronvolt.

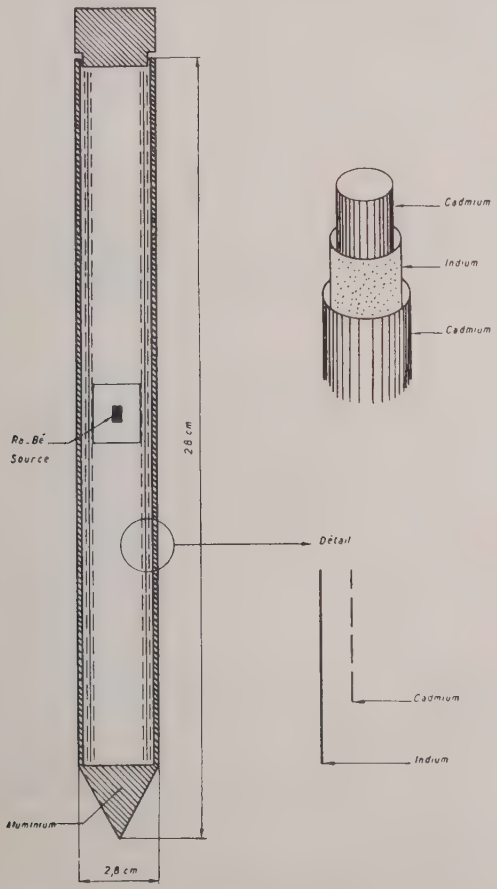


Fig. 5

L'indium est activé par les neutrons épithermiques ; on sort la feuille et on en mesure l'activité induite. On doit la laisser assez longtemps pour qu'elle soit convenablement activée ; pas trop cependant pour éviter la saturation qui survient en environ 6 heures. En outre l'activité résiduelle se prolonge durant 7 heures.

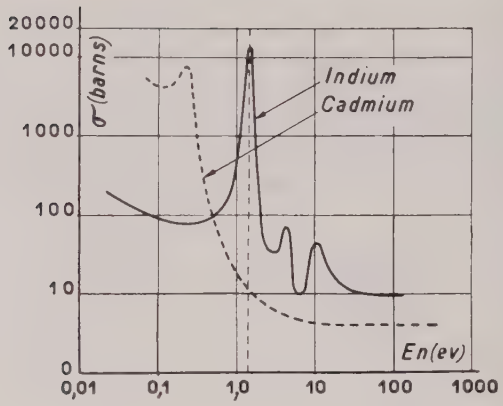


Fig. 6

La source utilisée par J. Brocard était de 50 mc et elle était située au milieu de la sonde.

La figure 7 donne la courbe d'étalonnage de cet appareil maintenant abandonné.

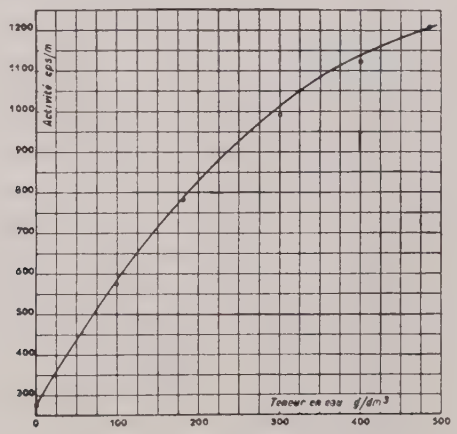


Fig. 7

— Dans la deuxième méthode la source de Radium-Béryllium ou parfois de Polonium-Béryllium (Gardner) émet des neutrons qui, thermalisés par l'eau du sol, sont mesurés directement à l'aide d'un tube à neutrons utilisé dans les réacteurs et fonctionnant au BF_3 en compteur proportionnel (tension 2.500 volts et pression 68 cm de mercure). Les neutrons thermiques agissent sur l'isotope 10 du bore selon la réaction :

$$^{10}_{5}B + {}^{1}_{0}n \longrightarrow {}^{7}_{3}Li + {}^{4}_{2}He$$

Le bore renferme naturellement l'isotope 10. Ce dernier possède une grande section efficace vis-à-vis des neutrons thermiques ce qui explique le bon rendement de la réaction (n, α) ci-dessus.

On enregistre les impulsions α en éliminant les γ parasites (fig. 8) à l'aide d'un discriminateur. Cette technique a été mise au point en France par J. Brocard.

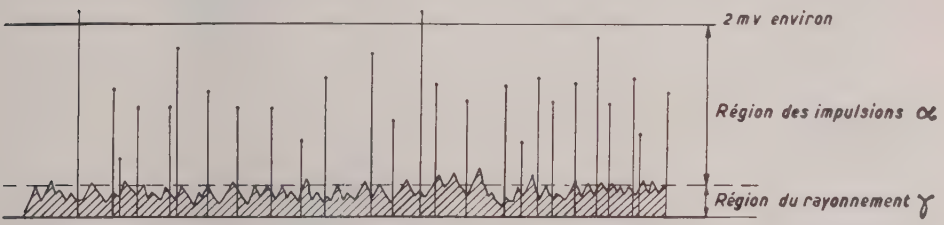


Fig. 8

En outre, afin de pouvoir effectuer des mesures profondes impliquant l'utilisation de longs cables, il a fallu prévoir tout à côté du BF_3, dans la sonde, un pré-amplificateur (fig. 9). Ce dernier est relié à l'échelle de comptage comportant le discriminateur.

Cette deuxième méthode est utilisée en pratique et nous décrirons divers montages.

Une troisième méthode, décrite par URBANEC dans un rapport présenté à la conférence de Genève (1955), utilise un scintillateur sensible aux neutrons thermiques.

La sonde comprend une source Ra-Be de 50 mc, un détecteur constitué d'un tube photomultiplicateur et d'un scintillateur au Zn S (Ag) et B_2O_3.

Cette technique ne s'est pas encore développée en raison de la mise au point délicate de la fabrication de ce scintillateur et de la fragilité de cet appareil, écueil qu'on doit éviter pour des mesures en champ.

b) *Méthode par transmission* (fig. 10).

Dans un travail récent, Martinelli utilise les neutrons rapides émis par une source Radium-Beryllium de 5 mc. Ces neutrons sont « focalisés » et thermalisés. Ils traversent alors le matériau à étudier. On mesure la décroissance du flux de neutrons lents selon la loi d'absorption. Cette mesure est faite à l'aide d'un compteur BF_3 placé vis-à-vis de la source dans l'axe du trou de focalisation.

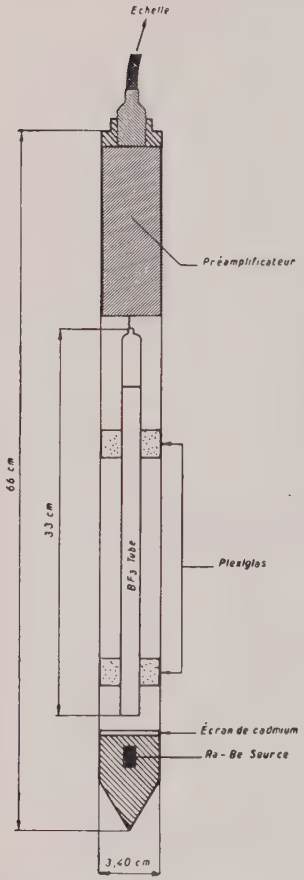


Fig. 9.

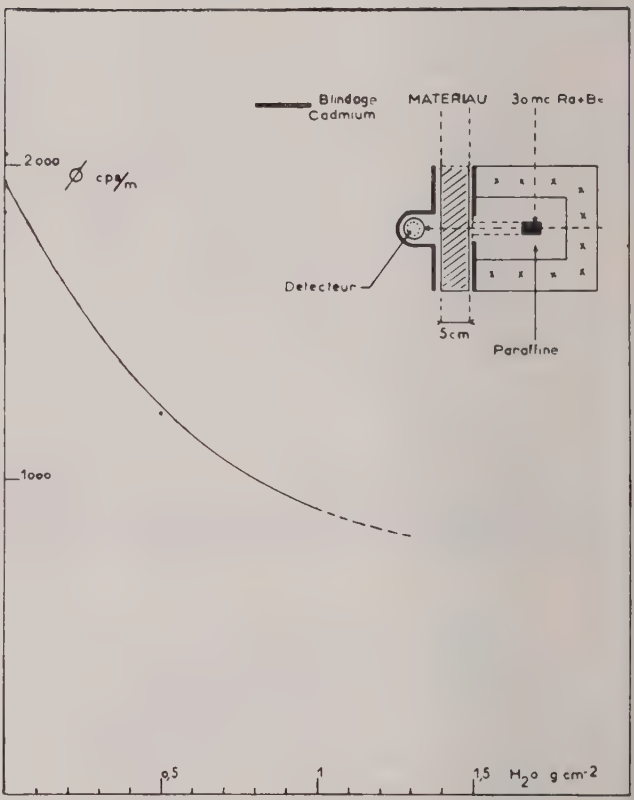


Fig. 10.

Cette méthode convient à des travaux de laboratoire, mais de par la nécessité qu'il y a à interposer entre la source et le compteur l'échantillon à mesurer en géométrie bien définie, elle n'est pas transposable au champ.

2°) Principe de la sonde a rayons γ.

La figure 11 suffit à en faire comprendre le principe. Une source de Cobalt 60 de 8 millicuries par exemple est disposée à l'extrémité d'une sonde d'environ 60 cm de longueur et de 3,4 cm de diamètre. Un écran de plomb sépare la source d'un compteur de Geiger et un pré-amplificateur est logé dans la sonde, relié à l'échelle de comptage. Le tube de Geiger enregistre les impulsions dues aux photons du rayonnement diffusé et le nombre d'impulsions enregistrées est en relation avec la densité du matériau, du sol ici, ainsi que l'indique la courbe

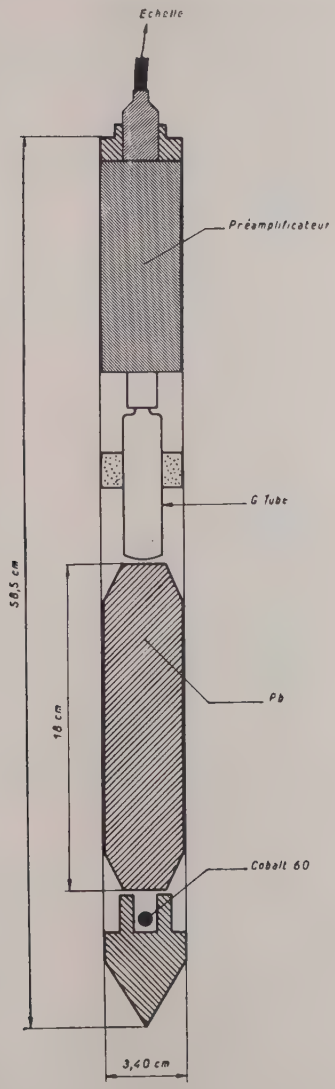


Fig. 11

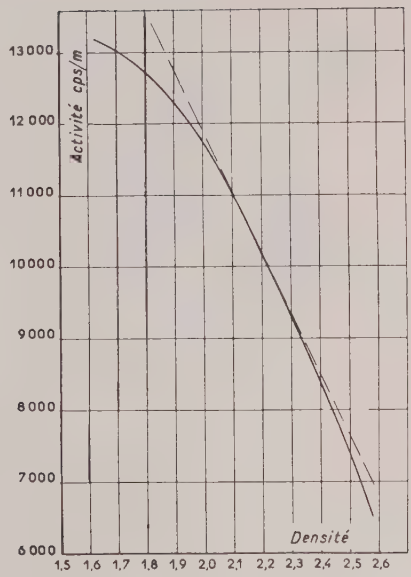


Fig. 12

de la figure 12. La partie utile de la courbe, qui est linéaire pour le béton, ne l'est pas pour le sol, mais ceci ne présente pas d'inconvénient majeur. Il importe de faire la mesure à au moins 35 cm du niveau du sol (fig. 13), on a alors une excellente précision ($< 1\%$).

Nous n'insisterons pas sur cette méthode car, si intéressante qu'elle soit pour les études de densité des sols, elle est moins utilisée en fait pour les études d'humidité.

La mesure de la densité du sol peut servir néanmoins à ramener l'humidité rapportée au volume, mesurée à l'aide des neutrons, à l'humidité rapportée au poids.

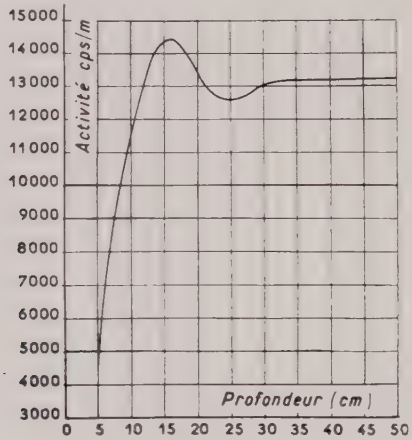


FIG. 13

Description de quelques types d'appareils permettant de mesurer l'humidité des sols

Le nombre de types d'appareils commercialisés n'est pas très important. En général d'ailleurs ces appareils sont coûteux, souvent lourds, parfois fragiles, mais toujours, du moins dans le cas des appareils modernes, ils donnent rapidement des résultats. On arrive à avoir en 3 minutes une mesure dont la précision est satisfaisante. Ainsi on peut faire des mesures en grande série ce qui est de la plus grande utilité pour les problèmes d'irrigation.

Nous allons examiner les divers constituants de l'appareil en détaillant les modifications que l'on rencontre.

1. — SONDE

Ici peu de différences. En général elle mesure 60 cm et 3 ou 4 de diamètre. Elle est descendue dans un tube en fer que l'on a introduit dans le sol, après y avoir creusé un trou à la tarière. Le fer absorbe une partie des neutrons, et l'inconvénient majeur peut provenir d'une épaisseur variable du métal par suite de la rouille. On a pensé utiliser des tubes en plastique mais la difficulté est de les enfoncer.

Signalons ici que diverses maisons fabriquent des sondes pour mesurer l'humidité en surface (fig. 14). Ces sondes se présentent sous la forme d'une sorte de fer à repasser rectangulaire. La source à neutron radium-

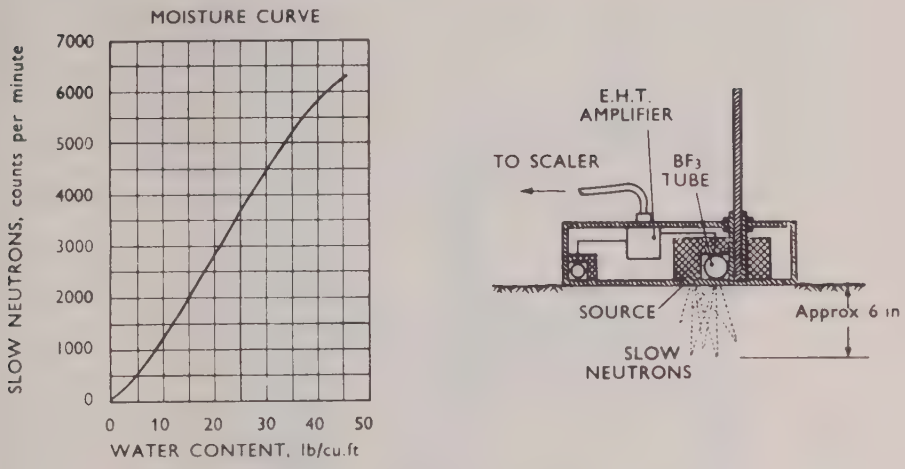


FIG. 14

Béryllium est du même type que celle des sondes descendues verticalement. Il y a un compteur BF_3 ; on opère toujours sur une « sphère d'influence » et l'humidité est appréciée sur 15 à 30 cm de profondeur selon l'humidité. La figure 15 montre le schéma de l'appareil correspondant mesurant la densité en surface.

2. — LE COMPTEUR BF_3 ET LA SOURCE DE NEUTRONS

Nous avons déjà indiqué que ce compteur est dérivé des modèles utilisés dans les réacteurs pour doser le flux de neutrons lents. On a avantage à en enrichir en ^{10}B le bore du compteur.

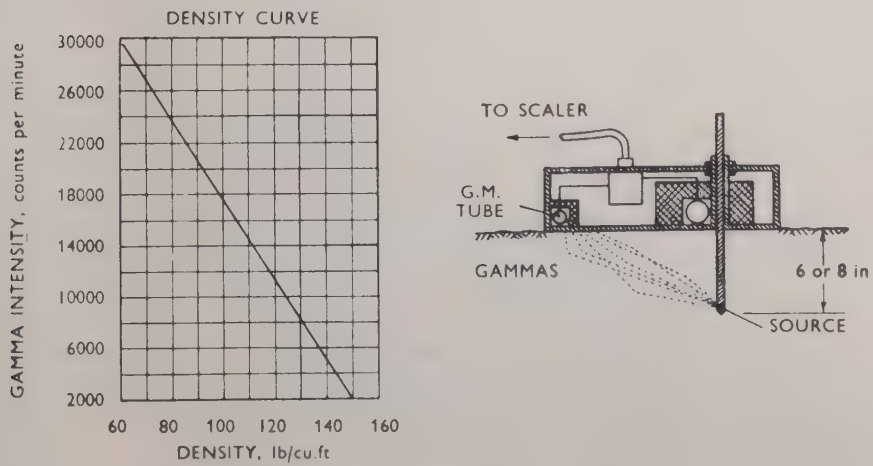


FIG. 15

La distance source-compteur doit être aussi petite que possible. D'où la position médiane de la source dans certaines sondes (fig. 16).

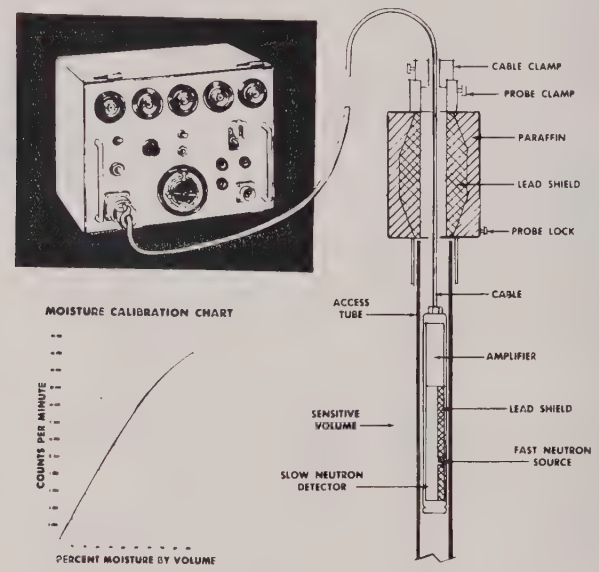


Fig. 16

Le tube compteur mesure l'humidité dans un volume sphérique de sol dont le rayon est inversement proportionnel à l'humidité selon la formule

$$R = 15 \sqrt[3]{\frac{100}{\text{Humidité } \%}}$$

Plus le sol est humide, plus ce rayon est petit. Si la longueur du compteur est supérieure au diamètre de la « *sphère d'influence* », le rendement devient mauvais, ce qui explique l'allure de la courbe d'étalonnage.

Par ailleurs si la source est placée en bout de la sonde, le rendement sera encore plus mauvais surtout si l'humidité est forte.

Il importe aussi de protéger le détecteur contre les neutrons lents sortant directement de la source. Les modèles dont la source est située à l'extrémité du tube comportent un écran de cadmium. Ceux qui ont la source au milieu ménagent une fenêtre étroite par laquelle passent ces neutrons qui, s'ils contiennent quelques neutrons lents n'interfèreront que très peu avec le volume total du compteur.

La source est de 4 à 5 millicuries dans les modèles actuels.

Il importe de protéger convenablement les opérateurs lorsqu'ils manipulent la sonde. Aussi les modèles en vente comportent-ils au niveau de la source une protection annulaire de plomb et de paraffine. Il est évident qu'il faut utiliser cette protection chaque fois que la sonde n'est pas dans le sol.

Nous donnons aussi une photographie d'un appareil à mesurer la densité des sols (fig. 17).

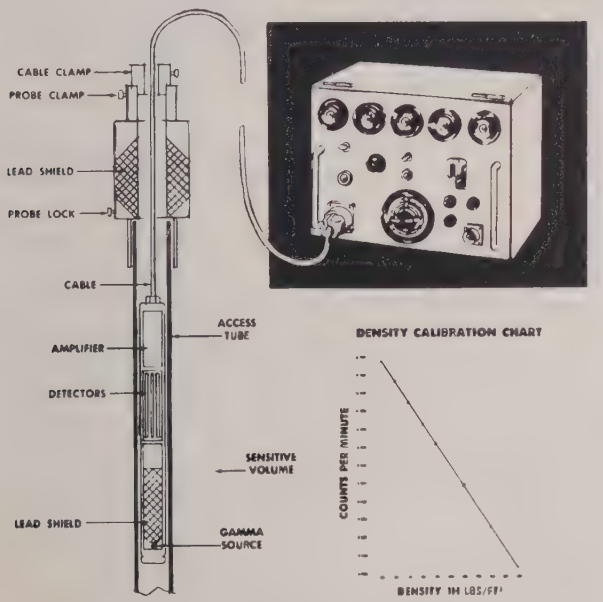


Fig. 17

3. — Le dispositif de comptage

Les premiers appareils fonctionnaient sur batteries avec une commutatrice. Le rendement était mauvais, le matériel lourd (80 kg).

Actuellement les techniciens proposent des compteurs à transistors fonctionnant sur pile, maniables, peu fragiles. Ce dernier caractère est particulièrement important ; une échelle de comptage dont un élément est à remplacer fréquemment oblige le spécialiste à vérifier sa courbe d'étalonnage.

La mesure de l'humidité devant se faire sur le terrain, il importe d'avoir un matériel léger et maniable.

Conclusion

L'Agronome dispose, avec les techniques nucléaires, d'un outil dont il est permis d'expérer beaucoup dans le domaine de la mesure de l'humidité des sols. Si jusqu'ici les recherches ont porté surtout sur les problèmes en liaison avec les travaux publics, il est certain que l'Agronome a un secteur d'utilisation spécifique.

Nous mêmes, au Commissariat à l'Énergie Atomique français, développons ce domaine tant pour les problèmes d'Europe que pour ceux des pays tropicaux et nous espérons pouvoir ultérieurement présenter nos résultats de recherches sur le terrain.

Résumé

Les auteurs rappellent d'abord les notions de base concernant l'état de l'eau dans le sol et l'alimentation des végétaux en eau.

La mesure de l'humidité des sols peut être effectuée à l'aide de sondes à neutrons dont on donne le principe ; on décrit les divers types de sondes selon qu'elles utilisent la méthode par rétrodiffusion (sonde à indium, sonde à compteur BF_3, sonde à scintillation) ou par transmission.

La mesure de la densité des sols est donnée.

Enfin les auteurs décrivent quelques appareils existants et insistent sur l'intérêt que présentent les appareils récents fonctionnant sur pièces ou batteries légères et comportant des transistors.

The measurement of soil moisture and density by means of neutron and γ radiation scattering gauges

Summary

In the first place, the writers recall the fundamental notions concerning soil water condition, and water nutrition of plants.

Soil moisture can be measured by means of neutron gauges, of which the principle is given ; various types of gauges are described, based on the retrodiffusion method (indium gauge, BF_3 meter gauge, scintillation gauge), or on the transmission method.

The measurement of soil density is explained.

Lastly, the writers described a few devices in use, insistinguponthe interest offered by some recent ones working on piles or light batteries, with transistors.

Feuchtigkeits- und Dichtemessungen des Bodens mit Hilfe von Sonden, die Neutronen oder γ Strahlen aussenden

Zusammenfassung

Die Autoren rufen zuerst die Grundbegriffe des Wasserzustands im Boden und die Wasserernährung der Pflanzen ins Ge ächtnis zurück.

Die Messung der Feuchtigkeit der Böden kann mit Hilfe von Nuronen-t sonden geschehen. Man gibt die Eigenschaften ; man beschreibt die verschiedenen Sorten von Sonden, je nachdem man die Methode der Rerotidffue sion (Indiumsonde, Zählsonde BF_3, Blinksonde) oder der Transmission benuzt.

Die Dichtemessung der Böden wird angegeben.

Schliesslich beschreiben die Autoren verschiedene bestehende Apparate und legen ihren Nachdruck auf das Interesse, das die neuen Apparate bieten, die mit Batterien, oder leichten Batterien mit Transistoren arbeiten.

Résistance des insectes aux irradiations ionisantes (*)
Quelques résultats avec la teigne de la farine, Ephestia kuehniella Z

par N. Van de Woestijne
Assistant (IRSIA)
et J. Van den Brande
Professeur, Rijkslandbouwhogeschool, Gand (Belgique)

I. — Introduction

Résistance des êtres vivants aux irradiations ionisantes

Parmi les êtres vivants il existe une grande diversité en ce qui concerne leur résistance aux irradiations radioactives. Des doses léthales pour une espèce déterminée n'influencent guère des autres.

Voici quelques données d'après Bacq, Z. M. & Alexander, P. (3) ; Dols, M. J. L. et Mossel, D. A. A. (9) et Fassuliotis, G. (10).

L'homme et les mammifères sont très sensibles. Déjà des doses de 100 à 1000 rep sont léthales : la DL 50/30 jours pour les rayons X s'élève respectivement pour l'homme, le chien, le porc et la souris de 400 à 500, de 300 à 430, de 275 à 400 et de 400 à 650 r.

D'autres vertébrés tels les oiseaux, les poissons et les amphibies sont plus résistants aux irradiations ionisantes que les mammifères : la DL 50/30 jours pour les rayons X s'élève respectivement pour les poissons rouges, les oiseaux et les salamandres à 670, à 1000 et de 8000 à 20.000 r.

Les bactéries et les virus peuvent être extrêmement résistants aux irradiations radioactives. Les bactéries non sporulantes sont tuées par des doses de 1000 à 1.000.000 rep, tandis que les bactéries sporulantes ne périssent que par des doses de 10.000 à 4.000.000 rep. La mortalité pour les virus commence à partir de 1.000.0000 rep, et dans certains cas des doses de 10.000.000 rep sont nécessaires pour une mortalité totale.

Les nématodes sont également très résistants. Seulement après application d'une dose de 640.000 r sur des kystes du nématode doré l'éclosion des larves est arrêtée.

Les insectes aussi sont assez résistants. Des doses de 20.000 rep et moins peuvent être léthales.

(*) Recherches subsidiées par l'Institut pour l'Encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture. (I.R.S.I.A.).

II. — Application des irradiations ionisantes sur les insectes.

Il y a deux techniques pour la destruction des insectes par les irradiations radioactives.

La première technique envisage une lutte indirecte par le lâchement de mâles stérilisés.

La seconde technique envisage une lutte par l'irradiation des denrées alimentaires contaminées.

Les rayons X et γ sont employés souvent pour cette irradiation. Les rayons γ sont préférés en raison de l'appareillage moins coûteux.

L'influence léthale et stérilisante est la même pour les rayons γ, α et X d'après Cornwell, P. B. (7) qui se base sur de nombreuses recherches.

α) Stérilisation des insectes

Les mâles stérilisés par l'irradiation radioactive sont lâchés à des époques régulières et successives. Ils doivent être en plus grand nombre que les mâles non stérilisés pour pouvoir exterminer la population.

Les mâles stérilisés fécondent normalement les femelles mais les œufs pondus n'éclosent pas en raison de la présence, dans le sperme, d'un facteur dominant léthal, Bushland, R. C. & Hopkins, D. E. (4) ; Lea, D. E. (13).

La lucilie bouchère, *Callitroga hominivorax* Cqrl, a été exterminée en 1954 par le lâchement de mâles stérilisés sur l'île de Curaçao d'après Bushland, R. C., Knipling, E. F. & Lindquist, A. (5). Des mâles stérilisés ont été obtenus en irradiant des pupes âgées de 5 jours par une dose de 5000 r de rayons γ, le stade pupal comptant 8 jours.

A l'aide d'un avion quatre cents mâles stérilisés par mille carré furent lâchés chaque semaine sur cette île d'une superficie de 170 milles carrés. L'expérimentation fut poursuivie pendant trois mois. Le succès était très satisfaisant, car après un délai de 7 semaines on ne trouvait plus d'œufs viables sur des chèvres blessées artificiellement, qui servaient d'appât pour les lucilies femelles.

Un essai analogue fut exécuté antérieurement sur Captive Island et Sanibel Island situées à trois milles de la côte de Floride. L'expérience a échoué parce que des invasions de mouches arrivaient régulièrement du continent. Par contre l'île de Curaçao est plus isolée.

D'après une communication de l'United States Department of Agriculture (1) la lutte contre la lucilie bouchère a commencé aussi en Floride. Des avions lâchent par semaine 50 millions de mouches stérilisées sur une superficie de 70.000 milles carrés. Comme en Curaçao on attend au moins une forte diminution si l'éradication totale n'était pas atteinte.

D'après une communication de l'United States Department of Agriculture *Anopheles quadrimaculatus* fut stérilisé en appliquant une dose de 11.820 r de rayons γ sur pupes âgées d'un jour. Des essais de laboratoire ont démontré que 80 % des œufs n'éclosent pas à la proportion de 6 à 10 mâles irradiés contre un mâle normal.

Le lâchement des mâles stérilisés de *Anopheles quadrimaculatus* serait une lutte intéressante, particulièrement pour la destruction d'individus résistants.

D'après Potts, W. H. (14) on a entamé la recherche des possibilités de stérilisation de la *glossine*. Une stérilité presque complète fut obtenue en irradiant des pupes adultes avec une dose de 6.000 rep de rayons γ. La longévité des mâles irradiés fut réduite de moitié mais sans diminution de copulation. Jusqu'à la dose de 12.000 rep la mortalité des pupes est minime, si l'irradiation est exécutée après le premier tiers du stade. Ces recherches se poursuivent malgré les désavantages d'une longévité extrêmement grande de cette mouche.

Jaynes, H. A. & Godwin, P. A. (11) ont exécuté des recherches sur les possibilités de stérilisation chez *Pissodes strobi*. Une dose de 5.000 à 10.000 rad provenant d'une source de CO_{60} occasionne la stérilité. La longévité de l'insecte n'est guère influencée.

D'après Knipling, E. F. (12) les résultats obtenus avec la méthode de la stérilisation dépendent des facteurs suivants :

— l'élevage en masse de l'insecte doit être exécutable facilement ;
— la région doit être isolée (l'île écologique) ;
— une méthode de dispersion des mâles stérilisés extrêmement simple et efficace est exigée ;
— la tendance pour la copulation des mâles traités doit être normale ;
— il est désirable que la femelle n'accepte qu'une seule fois la copulation, sinon il y a concurrence entre le sperme fertile et stérile ;
— la population de départ doit être diminuée au moment où l'on commence le lâchement des mâles stérilisés, sinon il est désirable d'appliquer d'autres moyens, telle la lutte chimique.

b) Irradiations de denrées alimentaires contaminées par des insectes

Cornwell, P. B., Crook, L. S. & Bull., J. D. (8) ont soumis aux irradiations γ quelques insectes comme *Calandra oryzae* L., *Calandra granaria* L., *Ephestia kuehniella Z.*, *Tribolium castaneum* Herbst et *Tribolium confusum* Duv.

Les auteurs en ont tiré les conclusions suivantes :

— la résistance des insectes contre l'irradiation radioactive est très variable suivant l'espèce : *Tribolium confusum* Duv. et *Tribolium*

castaneum Herbst sont beaucoup plus résistants que *Calandra oryzae* L. et *Calandra granaria* L.

— des insectes qui ont subi une dose léthale ne périssent pas immédiatement ; la mort survient lentement même en employant des doses élevées.

Après l'irradiation des individus adultes de *Calandra granaria* L. le temps nécessaire pour une mortalité totale était respectivement de 17 et 21 jours pour des doses de 50.000 et 6.000 rep.

— Les doses léthales prolongent la durée des stades de développement des insectes, et elles sont responsables de procès physiologiques extrêmement compliqués.

— Les espèces étudiées peuvent être stérilisées en général par une dose de 6.000 r.

D'après Cornwell, P. B. (6) la destruction des insectes contaminant des denrées alimentaires peut être exécutée au moyen de trois doses :

— Une dose de 500.000 rad occasionne la stérilisation et la mort des insectes endéans les 2 heures. Cette dose permettrait de conserver du grain ayant un pourcentage d'humidité élevé, car la plupart des bactéries serait également tuée.

— Une dose de 100.000 rad occasionne la mort et la stérilisation endéans les 7 jours. Les insectes irradiés ne se nourrissent guère, les acariens sont stérilisés, tandis que les bactéries ne seraient pas fortement endommagées.

— Des doses de 15.000 à 20.000 rad occasionnent la stérilisation et la mort endéans les 3 semaines. Les insectes adultes continuent à se nourrir, tandis que le développement des insectes non adultes s'arrête. Les acariens ne seraient pas endommagés.

Seule la dernière dose mentionnée serait économique.

III. — Quelques résultats avec la teigne de la farine

Au moyen de sources de CO_{60} des irradiations furent exécutées sur des œufs, des chenilles et des pupes.

a) *Irradiation d'oeufs.*

Les doses suivantes furent appliquées : 660, 1.125, 2.250, 4.500, 9.000, 18.000 et 36.000 rad.

Cent cinquante œufs furent traités par dose, l'âge moyen des œufs s'élevait à 4 jours.

Le diagramme 1 nous montre en pourcentage l'éclosion des œufs et des adultes ainsi que la descendance F_1 en ce qui concerne le nombre de chenilles.

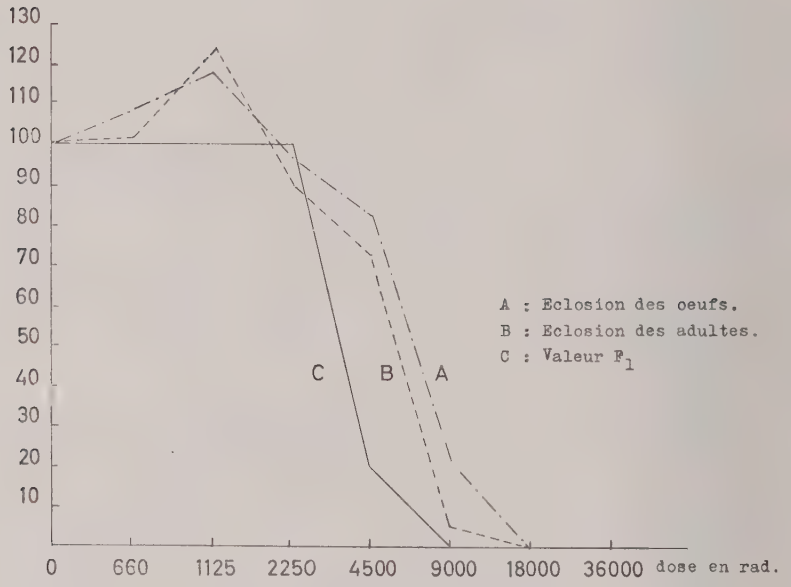


Diagramme 1

Suites de l'irradiation d'œufs (âge 4 jours) ; témoin 100 %

Le retard d'éclosion et l'aspect des adultes sont mentionnés au tableau 1.

Tableau 1

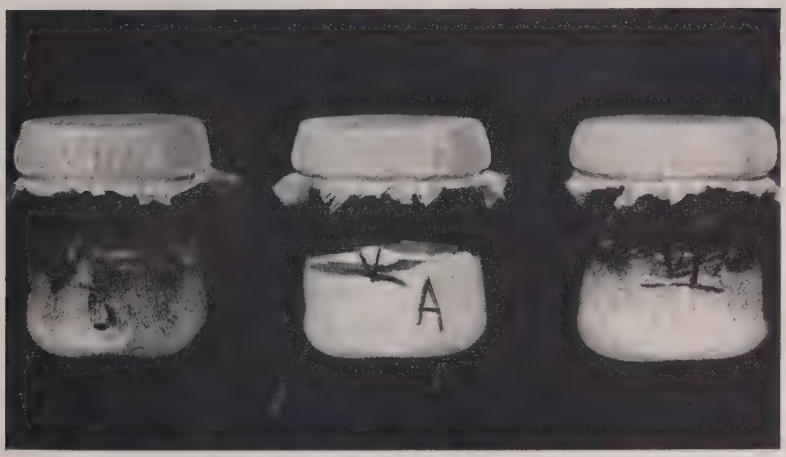
Jours de retard de l'éclosion des adultes et leur aspect après irradiation des œufs

Dose en rad	0	660	1.125	2.250	4.500	9.000	18.000	36.000
Aspect des adultes	normal	normal	normal	normal	normal à ratatiné	ratatiné	—	—
Retard d'éclosion en jours comparé au témoin	0	0	0	0	2	7	—	—

La photo présente les dégâts causés à la farine par les chenilles (F_1) provenant du témoin (VI_c) et de deux groupes traités I_B (aspect normal) et V_a (mortalité totale).

PHOTO

Dégâts de la descendance F_1 après irradiation des œufs (âge 4 jours)



I_B = 1.250 r : F_1 normal ;
V_A = 20.000 r : F_1 n'existant pas ;
VI_C = témoin : F_1 normal.

Conclusions :

— Les doses de 660, 1.125 et 2.250 rad ne nuisent pas ; au contraire l'irradiation semble stimuler l'éclosion des œufs et des adultes ;
— Une dose de 4.500 rad provoque de sérieux dégâts à l'insecte et notamment :
  — le pourcentage des adultes éclos ne s'élève qu'à 72,1 % ;
  — le nombre de chenilles dans la seconde génération n'est que de 20 % ;
  — les adultes sont déformés et peu actifs ;
  — l'éclosion est retardée de 2 jours ;
— A la dose de 9.000 rad l'éclosion des adultes n'est que de 5,7 %, et ils ne se reproduisent pas ;
— Les doses supérieures à 18.000 rad sont léthales pour les œufs.

b) *Irradiation des chenilles.*

Les doses suivantes furent appliquées : 660, 1.125, 2.250, 4.500, 9.000, 18.000 et 36.000 rad. L'âge moyen des chenilles s'élevait à 17 jours.

Le diagramme 2 nous montre en pourcentage l'éclosion des adultes ainsi que la descendance F_1 en ce qui concerne le nombre de chenilles.

Le retard d'éclosion et l'aspect des adultes figurent au tableau 2.

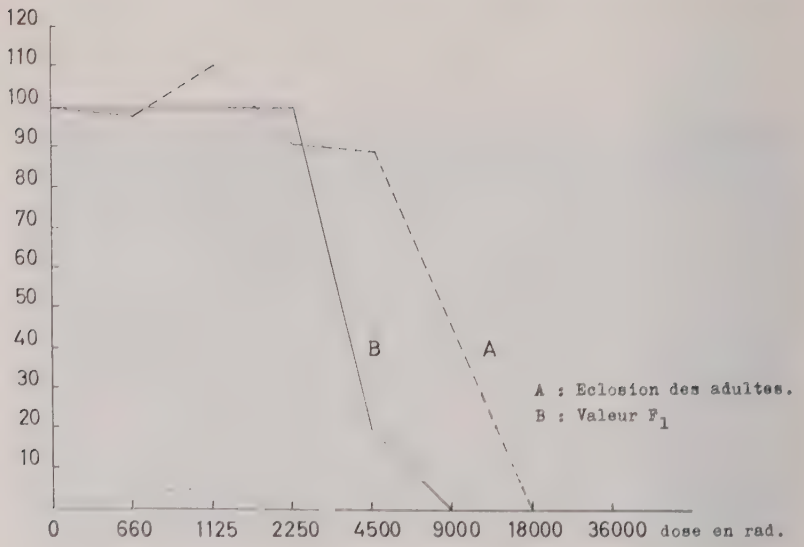


Diagramme 2

Suites de l'irradiation de chenilles (âge 17 jours) ; témoin 100 %

Tableau 2

Jours de retard de l'éclosion des adultes et leur aspect après irradiation des chenilles (âge 17 jours)

Dose en rad	0	660	1.25	2.250	4.500	9.000	18.000	36.000
Aspect des adultes	normal	normal	normal	normal	normal à ratatiné	ratatiné	—	—
Retard d'éclosion en jours comparé au témoin	0	0	0	0	2	18	—	—

Conclusions de l'irradiation de chenilles :

- Des doses inférieures à 2.250 rad ne nuisent nullement, au contraire elles semblent plutôt stimuler les chenilles ;
- Une dose de 4.500 rad est nuisible ;
- Des doses de 18.000 et 36.000 rad sont léthales pour les chenilles ;
- En ce qui concerne le nombre d'adultes éclos on constate qu'après l'application des doses de 4.500 et 9.000 rad l'effet nuisible est plus

prononcé en irradiant des chenilles que des œufs ; et vice versa pour le retard d'éclosion.

c) *Irradiation des pupes*

Les doses suivantes furent appliquées 560, 1.125, 2.250, 4.500, 9.000 et 18.000 rad.

Le nombre et l'aspect des adultes éclos sont mentionnés au tableau 3, tandis que le diagramme 3 nous montre le pourcentage des adultes éclos et la valeur F_1.

Tableau 3

Nombre et aspect des adultes éclos après irradiation de pupes (âge 4 jours)

Dose en rad	Répétition	Nombre des pupes soumis à l'irradiation	Nombre des adultes éclos	Aspect des adultes
	1	54	35	
témoin	2	53	36	normal
	3	55	42	
	1	51	27	
560	2	50	26	normal
	3	53	26	
	1	57	40	
1.125	2	65	58	normal
	3	60	43	
	1	50	34	
2.250	2	57	46	normal
	3	52	45	
	1	50	32	
4.500	2	50	36	normal
	3	52	24	à ratatiné
	1	50	31	
9.000	2	50	26	normal
	3	51	27	à ratatiné
	1	51	4	
18.000	2	57	6	ratatiné
	3	52	2	

Conclusions de cette irradiation :

— Les pupes sont plus résistantes que les chenilles et les œufs ;
— Des doses de 560, 1.125 et 2.250 rad ne provoquent pas de dégâts aux adultes éclos, au contraire elles paraîssent plutôt favorables ;
— Le pourcentage d'éclosion d'adultes est presque normal en appliquant des doses de 4.500 et 9.000 rad, mais la répercussion sur la génération F_1 est importante ;
— Une dose de 18.000 rad permet encore une faible éclosion d'adultes, mais ceux-ci ne sont plus capables de se reproduire.

Nous remercions vivement MM. Goens, H. et De Proost, M. du C. E. N. de Mol et MM. Reyntens, H. et De Loose, R. de la R.P. à Lemberge pour leur collaboration précieuse.

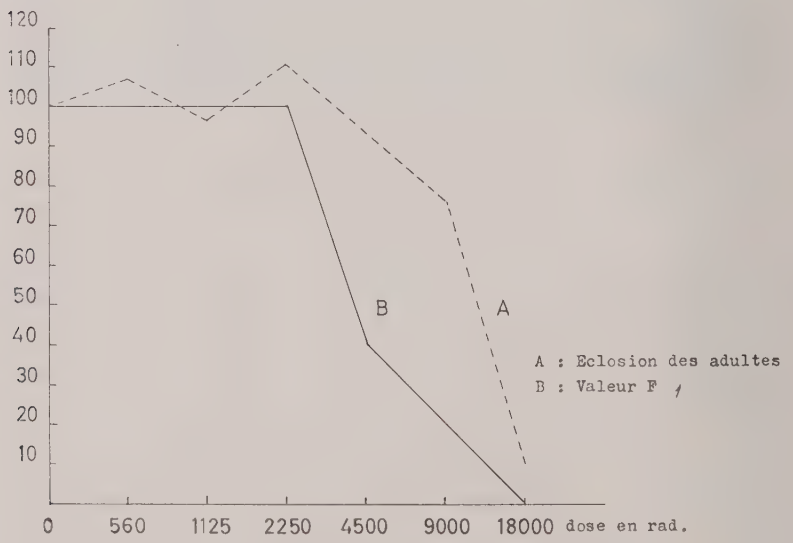


Diagramme 3

Pourcentage d'éclosion des adultes et valeur F_1 après l'irradiation de pupes (âge 4 jours) ; témoin 100 %

BIBLIOGRAPHIE

(1) Anonymus, (1958). Battle against Crop and Livestock Pests waged on many Fronts in 1958. United States Department of Agriculture, 3310-58, Wash, Dec. 12.
(2) Anonymus : (1958). Sterilized Male Mosquitoes May Become Control Aid. United States Department of Agriculture, Wash., nov. 28.

(3) Bacq, Z. M. & Alexander, P. (1955). Fundamentals of Radiobiology. Butterworths Scientific Publications, London.
(4) Bushland, R. C., D. E. Hopkins. (1953). Sterilization of Screw-Worm Flies with X-Rays and Gamma-Rays. *Journal of Economic Entomology*, 46, 4, 648-656.
(5) Bushland, R. C., Knipling, E. F. & Lindquist, A. W. (1956). Eradication of the Screw-Worm Fly by Releasing Gamma-Ray Sterilized Males among the Natural Population. Proc. Intern. Conf. Peaceful Uses of Atomic Energy, vol. 12, 216-220.
(6) Cornwell, P. B. (1958). The Control of Pests in Grain by Gamma-Irradiation. Reprint, New Scientist, May 22.
(7) Cornwell, P. B. (1958). The Disinfestation of Foods Particulary Grain. United Nations Food and Agriculture Organisation, Food Irradiation Conference, A.E.R.E., I.R. 2748 Harwell, Nov., 1958.
(8) Cornwell, P. B. Crook, L. J. Bull, J. D. (1957). Lethal and Sterilizing Effects of Gamma Radiation on Insects infesting Cereal Commodities. *Nature*, 179, 670-672.
(9) Dols, M. J. L., Mossel, D. A. A. (1958). Het Conserveren van Voedingswaren met behulp van Ioniserend Straling. *Landbouwkundig Tijdschrift*, 287-302.
(10) Fassuliotis, G. (1958). Effects of Ionizing Radiations on the Golden Nematode, Heterodera rostochiensis. Reprint, Radiation Research, 9, 1, July.
(11) Jaynes, H. A., Godwin, P. A. (1957). Sterilization of the White-Pine Weevil (Pissodes strobi) with Gamma Radiation. *Journal of Economic Entomology*, 50, 4, 393-395.
(12) Knipling, E. F. (1955). Posibilities of Insect Control through the use of Sexually Sterile Males. *Journal of Economic Entomology*, 48, 459-462.
(13) Lea, D. E (1955). Actions of Radiations on Living Cells. University Press Cambridge.
(14) Potts, W. H. (1958). Sterilization of Tsetse Flies (Glossina morsitans) by Gamma Rays. *Pesticides Abstracts and News Summary, Sect. A, Insecticides*, 4, 4, 596-599.

Résumé

Les auteurs ont étudié la résistance des insectes aux irradiations radioactives et ses possibilités de lutte des insectes nuisibles.

Deux méthodes sont examinées : la lutte directe en irradiant des denrées alimentaires contaminées par des insectes ; la lutte indirecte en lâchant dans une population des mâles stérilisés par irradiation.

Au moyen d'une source de Co_{60} ils ont expérimenté l'influence de l'irradiation sur différentes stades de la Pyrale de la farine, *Ephestia kuehniella* Z. Les résultats en sont communiqués.

Insect resistance to ionizing radiation. Some results with flour mot. Ephestia kuehniella Z

SUMMARY

The authors have studied the problem of insect resistance to gamma radiation and its possibilities for pest control.

Two methods are examined : direct control by irradiation of insect contaminated food and indirect control with the release of radiation sterilized males.

Using a Co_{60} source the influence of radiations on different development stages of the flour moth, *Ephestia kuehniella* Z. has been examined. The results of the experiments are reported.

Resistenz der Insekten gegen Strahlungen. Verschiedene Ergebnisse bei der Mehlmotte, Ephestia kuehniella Z

ZUSAMMENFASSUNG

Die Autoren untersuchten die Resistenz der Insekten gegen radioaktive Bestrahlung und die Möglichkeiten der Bekämpfung schädlicher Insekten mittels dieser Bestrahlung.

Es wurden zwei Methoden untersucht : die direkte Bekämpfungsmethode durch Bestrahlung der durch die Insekten befallenen Nahrungsmittel, und die indirekte Bekämpfungsmethode durch Freilassung der durch Bestrahlung sterilisierter Männchen einer Population.

Sie untersuchten den Einfluss der Bestrahlung der Mehlmotte, *Ephestia kuehniella* Z., in verschiedenen Entwicklungsphasen mittels einer Co_{60} Quelle. Die Resultate dieser Untersuchungen werden dargelegt.

Résistance des divers stades de développement de « Sitophilus granarius L. » et « S. oryzae L. » aux irradiations par les rayons γ (Co^{60}) (*)

par W. E. van den Bruel
Professeur-Directeur
et D. Bollaerts
Chef de travaux, Station d'Entomologie de l'État, Gembloux (Belgique)

Les recherches poursuivies ont pour objectif de définir les conditions nécessaires et suffisantes requises pour anéantir par l'effet direct des radiations ionisantes la faune entomologique infestant les denrées alimentaires entreposées. Nous avons retenu ici les expériences effectuées sur les calandres : *Sitophilus granarius* L. et *S. oryzae* L. qui comptent, comme on le sait, parmi les plus redoutables destructeurs de stocks de vivres.

Notre pratique déjà longue des recherches sur la biologie des insectes nuisibles aux denrées alimentaires nous a permis de tenir compte de l'état de développement de l'animal, même lorsqu'il dissimule ses stades immatures dans les tissus profonds du grain. C'est précisément le cas des calandres dont les stades : œuf - larve I - larve II - larve III - larve IV-prénymphe - nymphe et adulte immature se succèdent au sein de l'amande sans que leur présence soit décelable par un examen externe de la graine. Ce n'est qu'après avoir franchi le stade immature que l'adulte sort de sa loge de nymphose et circule librement dans le tas de céréales. La longévité de l'adulte au cours de cette nouvelle phase de son existence peut atteindre un an.

L'importance qu'il y a lieu d'accorder à la vie dissimulée de l'insecte est donc primordiale. Nous y trouvons l'ensemble des stades juvéniles. Ceux-ci sont précisément les plus nuisibles, les adultes n'occasionnant que des dégâts mineurs et n'étant à craindre qu'en tant que géniteurs.

***

(*) Les traitements par irradiation ont été exécutés à Mol au Centre d'Étude de l'Energie nucléaire. Nous tenons à remercier ici le C.E.N. de nous avoir permis d'exécuter ces expériences et de nous avoir à cet effet prêté le concours de son spécialiste, M. De Proost.

I. — Expériences de la 1re série

La résistance des adultes des calandres *Sitophilus granarius* L. et *S. oryzae* L. aux effets directs de l'exposition aux irradiations a été vérifiée au cours d'une première série d'expériences.

Les essais ont été exécutés sur des calandres adultes s'étant dégagées de leur loge de nymphose depuis un temps connu.

Chaque opération a été effectuée sur un groupe de 100 imagos enfermés dans un petit sachet en polyéthylène (première série d'essais), ou sur un groupe de 25 adultes de 2 à 10 jours contenus dans de petites boîtes en matière plastique (deuxième série d'essais), ou sur un groupe de 50 adultes de 2 à 10 ou de 10 à 30 jours emprisonnés dans les mêmes récipients (troisième série d'essais). Chaque fois, les insectes soumis aux essais se trouvaient en présence de grains de froment.

Après l'exposition à l'irradiation, les calandres ont été transférées dans un bocal d'élevage garni de 50 g de grains de froment frais non traités, dont l'absence de toute infestation cachée a été assurée au préalable par une fumigation au bromure de méthyle. L'ensemble constitué par les grains frais et par les insectes ayant subi le traitement par irradiation a été conservé ensuite pendant deux mois dans une chambre d'élevage maintenue à 28° C et dont l'humidité relative est fixée à 70 %.

Des tamisages exécutés tous les 3 jours pendant cette longue période d'élevage ont permis d'observer le cours de la mortalité parmi les sujets irradiés et l'existence d'une éventuelle descendance.

Chaque essai d'irradiation a fait l'objet d'une triple répétition. Les moyennes des valeurs obtenues ont servi à établir une série de graphiques. Les figures 1-2-3-4 en donnent des exemples.

Conclusions de la première série d'essais : Effet léthal direct sur les calandres adultes.

Les conclusions générales suivantes ont été tirées de ces expériences :

a) La dose de 10.000 rad est suffisante pour anéantir les adultes appartenant aux deux espèces de calandre.

b) Il n'y a aucun avantage au point de vue de l'efficacité de doubler cette dose.

c) Les deux espèces ne sont pas également sensibles aux effets de l'irradiation. *S. granarius* manifeste une plus grande résistance que *S. oryzae*. Cette plus grande résistance s'extériorise par le décalage de 8 jours séparant les moments où une proportion similaire de mortalité est atteinte pour des animaux ayant subi une irradiation d'une égale

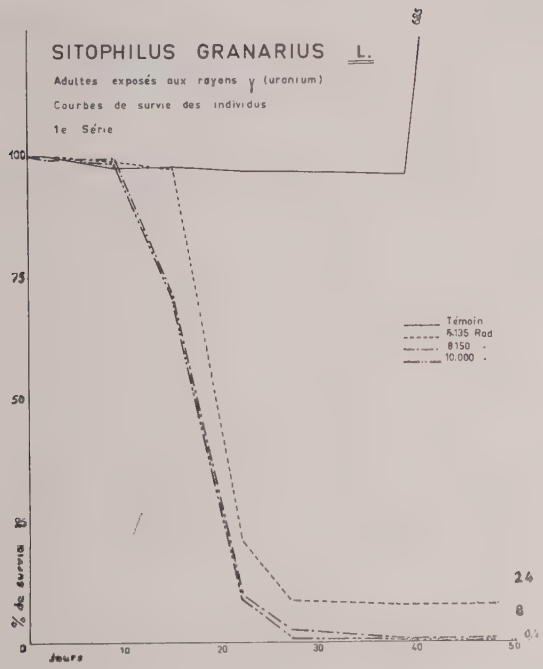

SITOPHILUS GRANARIUS L.
Adultes exposés aux rayons γ (uranium)
Courbes de survie des individus
1e Série
100
75
50
0
% de survie
Jours
10
20
30
40
50
Témoin
6135 Rad
8150 .
10.000 .
24
8
0,4

FIG. 1

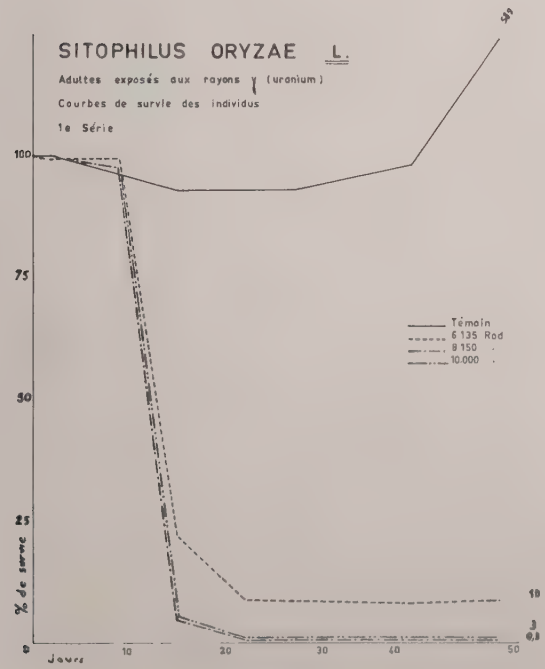

SITOPHILUS ORYZAE L.
Adultes exposés aux rayons γ (uranium)
Courbes de survie des individus
1e Série
100
75
50
25
0
% de survie
Jours
10
20
30
40
50
Témoin
6135 Rad
8150 .
10.000 .
19
3
0,8

FIG. 2

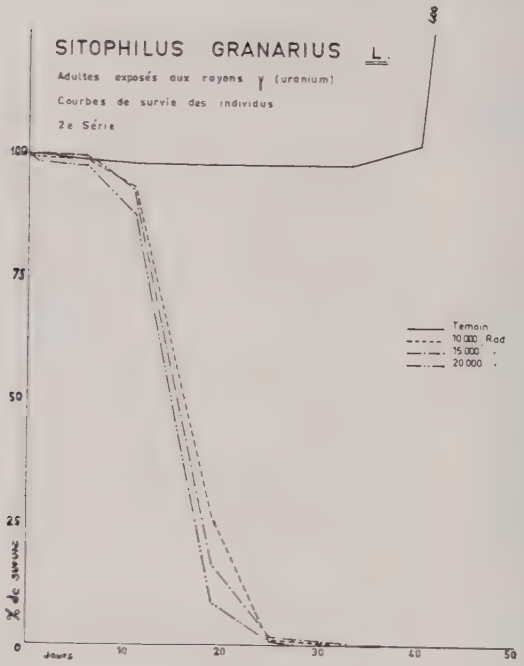

SITOPHILUS GRANARIUS L.
Adultes exposés aux rayons γ (uranium)
Courbes de survie des individus
2e Série
100
75
50
25
0
% de survie
Jours
10
20
30
40
50
Témoin
10.000 Rad
15.000 "
20.000 "

FIG. 3

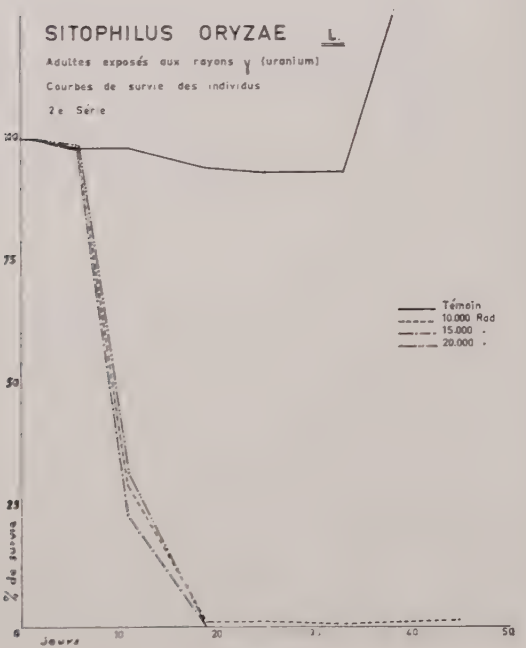

SITOPHILUS ORYZAE L.
Adultes exposés aux rayons γ (uranium)
Courbes de survie des individus
2e Série
100
75
50
25
0
% de survie
Jours
10
20
40
50
Témoin
10.000 Rad
15.000 "
20.000 "

FIG. 4

intensité. C'est ainsi qu'une dose de 6.185 rad suffit pour assurer la destruction quasi complète après une vingtaine de jours des adultes de *Sitophilus oryzae* L., après une trentaine de jours celle des imagos de *S. granarius* L.

Cette différence de sensibilité ne paraît pas affecter la proportion de survie constatée après 2 mois parmi les individus des deux espèces soumis à la même intensité de traitement.

Lorsque l'intensité de l'irradiation est relativement faible (6.150 et 8.150 rad), la proportion de survie après 2 mois est encore, pour les deux espèces, de 8 % dans le premier cas, de 1 % dans le second, tandis que le nombre de descendants obtenus des groupes de géniteurs traités est minime (pour le traitement à la dose de 6.150 rad, 2 descendants pour les 100 *S. oryzae* traités et 16 pour le même nombre de *S. granarius* ; pour le traitement à la dose de 8.150 rad, 2 descendants pour les 100 *S. oryzae* traités et 7 pour le même nombre de *S. granarius*. Les témoins non traités ont fourni à l'issue de la même période d'observation 400-500 et plus de descendants pour 100 adultes constituant le lot).

***

II. — Expériences de la 2e série

La documentation relative à la sensibilité des insectes aux irradiations permet difficilement de situer l'intensité minima du traitement requis pour prévenir la prolifération des sujets traités.

Or la connaissance de cette valeur est importante. Il est toujours avantageux de réduire au strict nécessaire l'intensité d'un traitement, ne fût-ce qu'en tenant compte de l'aspect économique du problème et de l'aisance plus grande avec laquelle l'opération pourra être exécutée.

Il n'est par ailleurs nullement certain qu'il soit toujours utile de faire subir à un stock de grains un traitement tel que la mort relativement rapide des insectes qui l'infestent soit assurée. En effet, si cette population est réduite, la perspective de son accroissement est seule redoutée. Si, par contre, elle a déjà atteint un niveau important, sa destruction immédiate ne permettra plus d'éviter la dévalorisation de la marchandise, laquelle est déjà acquise ; s'il y a infestation cachée, ce traitement ne pourra pas éviter le déclassement des denrées dérivées de cette matière première infestée car elles seront chargées inévitablement d'un « filth » excessif (11-12).

L'incertitude existant au sujet de l'intensité minima du traitement à exécuter pour obtenir la stérilisation de la population d'insectes est

attribuée par John D. Hilchey au nombre insuffisant de données publiées jusqu'à présent à ce sujet et au manque de précisions trop fréquent quant au stade de l'insecte soumis à l'irradiation (9). Dans le cas des calandres, la vie dissimulée de l'insecte a accru les difficultés rencontrées par les expérimentateurs.

Notre deuxième série d'expériences, qui a porté sur la définition des doses minima requises pour prévenir la reproduction de la calandre du grain et de celle du riz, en tenant compte de l'état de développement de l'insecte soumis au traitement, tend à apporter les précisions souhaitées en ce qui concerne les stades juvéniles.

*
* *

Technique opératoire

Des lots de grains de froment, préalablement désinsectisés au bromure de méthyle, ont été soumis séparément aux pontes massives des deux espèces de calandre : *Sitophilus granarius* L. et *S. oryzae* L. Les périodes de ponte ont toujours été limitées à 24 h afin de disposer de stades de développements définis lors de l'irradiation par les rayons γ (Co^{60}). Le moment de ponte a été fixé à 2-8-15-28 et 35 jours avant la date prévue pour l'exposition au traitement ionisant.

Les élevages ont été conservés dans une chambre d'incubation dont la température et l'humidité relative de l'air ont été maintenues respectivement à 28° C et 70 %.

La séparation des insectes par groupes d'âge a été effectuée sur la base de la durée minima des différentes stades de *S. granarius* L. à 28°C (Tableau I), telle qu'elle a été définie par Andersen en 1938 (1). Le dé-

Tableau I

Durée minima des stades de développement de *Sitophilus granarius* L.
(d'après Andersen)

Stade	Durée en jours	
	du stade	totale
Œuf	3 1/2	3 1/2
Larve I	7	10 1/2
Larve II	6	16 1/2
Larve III	4	20 1/2
Larve IV	5	25 1/2
Prénymphe	1	26 1/2
Nymphe	6 1/2	33
Imago immature	2	35

veloppement de *S. oryzae* serait, d'après plusieurs auteurs, un peu plus rapide à cette température.

Il y a lieu d'observer que les insectes utilisés pour la ponte proviennent de populations banales. La croissance de leurs descendants ne s'effectue pas suivant une vitesse uniforme en dépit de la mise en élevage dans des conditions sensiblement identiques. Deux conséquences résultent de cette remarque :

1. — En dépit des précautions prises, les insectes soumis aux traitements ionisants n'ont pas atteint à ce moment exactement le même stade de développement. Il y a parmi eux un certain nombre d'individus présentant une avance sur leurs voisins. Cette avance est limitée mais elle s'accroît lorsque l'attention se porte sur des populations de plus en plus âgées.

Il n'a pas été possible, lors de l'exécution des expériences décrites, de définir cette avance et la proportion des individus bénéficiant de celle-ci (*).

2. — L'accroissement progressif du « déphasage » existant en ce qui concerne l'état du développement atteint par les divers individus constituant un groupe fait que les adultes obtenus ne se dégagent pas simultanément de la loge de nymphose. Comme les imagos deviendront après un certain temps des géniteurs, il importe de les séparer de l'élevage d'origine au fur et à mesure de leur apparition. Cette opération impose de nombreux tamisages et exige beaucoup de main-d'œuvre.

On peut ajouter à ces remarques que l'emploi de grains exposés à des pontes massives pendant 24 h ne permet pas de préjuger du nombre d'œufs inclus dans l'échantillon. Il n'existe pas de méthode expérimentale pratique fournissant le moyen d'obvier à cet inconvénient. Nous ne pouvons donc opérer que par comparaison entre le nombre d'adultes obtenus dans différents lots maintenus depuis les débuts de l'expérience dans des conditions expérimentales identiques. Les proportions obtenues par rapport au témoin non traité n'indiquent donc pas la valeur réelle de survie mais bien une valeur relative, étant donné que le nombre effectif des sujets existant au départ dans chaque lot n'a pas été identique tout en se trouvant compris dans les limites d'un certain ordre de grandeur.

(*) Le laboratoire a été équipé depuis lors d'un appareil à rayons X destiné à la radiographie des grains (13). Il n'est pas exclu qu'il pourra en tirer avantage dans l'avenir pour augmenter la précision des données relatives à l'âge physiologique des insectes traités (fig. 5).

Observons enfin que le travail considérable exigé par cette expérience n'a pas permis de répéter les essais. Nous espérons pouvoir remédier plus tard à cette lacune.

*
* *

La veille du traitement, les différents lots ont été répartis après mélange en échantillons uniformes de 150 g. L'un d'entre eux au moins a été chaque fois conservé comme témoin et les autres ont été exposés respectivement aux doses de 1.000-2.500-5.000-10.000-20.000 et 50.000 rad.

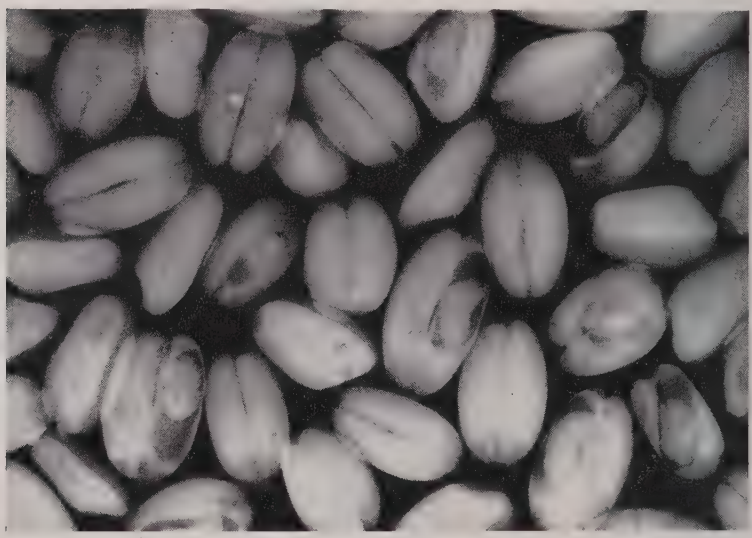


Fig. 5

Les jeunes imagos émergeant des grains traités et non traités ont été extraits par des tamisages deux fois par semaine et transférés sur des grains sains (désinsectisés au bromure de méthyle). Leur longévité et leur capacité de ponte ou plus exactement la viabilité de leur descendance ont été contrôlées régulièrement dans ces nouveaux élevages.

Ces derniers ont comporté trois phases successives afin de mieux apprécier la vigueur des insectes. Les adultes ont été maintenus pendant les trois premières semaines suivant leur émergence sur un premier lot de grains sains, puis ils ont été transférés dans un deuxième lot pen-

IRRADIATION AUX RAYONS γ (Co^{60})

Incidence sur le Développement et la Reproduction de SITOPHILUS GRANARIUS L.

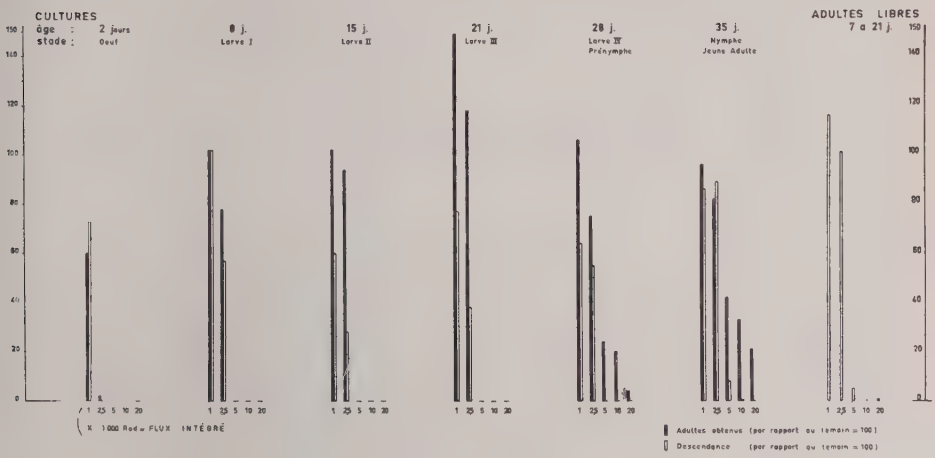


FIG. 6

IRRADIATION AUX RAYONS γ (Co^{60})

Incidence sur le Développement et la Reproduction de SITOPHILUS ORYZAE L.

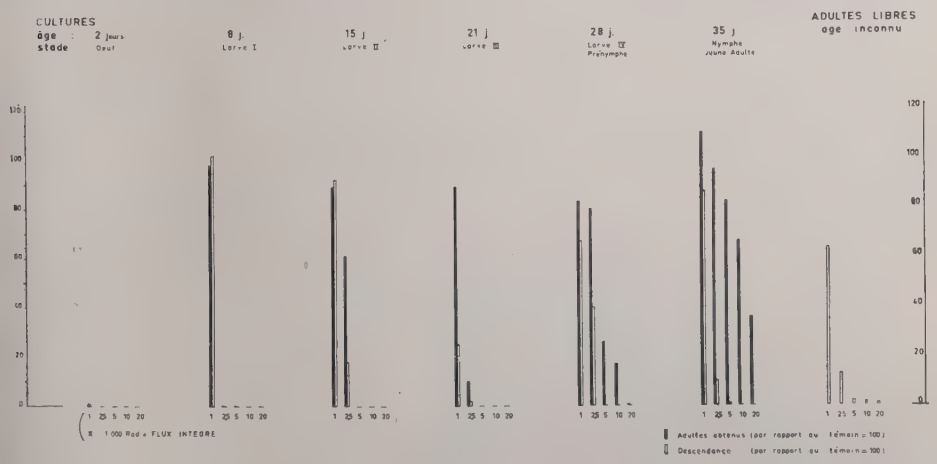


FIG. 7

dant la période s'étendant de la quatrième à la sixième semaine et enfin sur un troisième lot où seule la durée de survie a été vérifiée.

***

Les expériences

Les résultats de ces expériences, présentés sous forme de graphiques, sont repris dans les Figures 6 et 7.

Commentaires

1. Sujets irradiés a l'état d'oeuf (délai après ponte : 2 jours)

La valeur de 1000 rad a diminué les émergences de *S. oryzae* de 99 % et celles de *S. granarius* de 40 % par rapport au témoin correspondant. Elle n'a pas eu d'effet sur la longévité des adultes émergés (respectivement 100 et 98 % de survies après 8 semaines). Dans le cas de *S. oryzae*, trois individus seulement ont atteint le stade adulte et ils n'ont pas eu de progéniture. Dans le cas de *S. granarius*, la descendance totale a été réduite de 27 % par rapport au témoin, mais la descendance moyenne des survivants a été légèrement plus élevée que celle du témoin.

La valeur de 2.500 rad a réduit les émergences des deux espèces respectivement de 100 et 98 % par rapport au témoin et elle a empêché toute descendance de *S. granarius* (15 individus ayant atteint le stade adulte). L'effet sur la longévité des adultes émergés est insignifiant (93 % de survies après 8 semaines).

2. Sujets irradiés à l'état de jeunes larves (L. I) (délai après ponte : 8 jours)

La valeur de 1.000 rad n'a eu de l'effet ni sur les émergences ni sur la longévité ni sur la progéniture des deux espèces de calandres. Le nombre d'adultes récoltés et celui de leur descendance correspondent pour les deux espèces à ceux obtenus dans les témoins correspondants.

La valeur de 2.500 rad a donné lieu à l'émergence de 3 individus (soit une réduction de 99,6 %) dans le cas de *S. oryzae* ; ils n'ont pas eu de progéniture. Cette valeur a réduit les émergences de *S. granarius* de 22 % et leur progéniture totale de 43 % par rapport au témoin.

La valeur de 5.000 rad a réduit les émergences de *S. oryzae* de 99,7 % (2 individus) et a empêché toute émergence dans le cas de *S. granarius*.

3. Sujets irradiés a l'état de larves plus agées (L. II) (délai après ponte : 15 jours)

Les valeurs de 1.000 et 2.500 rad n'ont pas eu d'effet sur les émergences de *Sitophilus granarius*, ni sur la longévité des adultes émergés, mais ils en ont réduit la descendance respectivement de 40 et 72 % par rapport au témoin.

Ces mêmes valeurs ont réduit les émergences de *S. oryzae* respectivement de 11 et 39 % et leur descendance de 8 à 82 %.

La valeur de 5.000 rad a empêché toute émergence chez les deux espèces.

4. Sujets irradiés a l'état de larves agées (L. III) (délai après ponte : 21 jours)

Les valeurs de 1.000 et 2.500 rad ont donné lieu dans le cas de *Sitophilus granarius* à des émergences plus nombreuses que dans le témoin correspondant, mais les descendances totales ont été réduites respectivement de 23 et 62 %.

Ces résultats aberrants peuvent résulter :

1) d'un accident concernant l'échantillon témoin et resté ignoré, par suite d'une erreur de dénombrement survenue au cours des nombreux contrôles subis par le témoin (18 s'échelonnant sur 9 semaines).

2) d'une diminution de la mortalité naturelle occasionnée par les faibles doses d'irradiation appliquées à ce stade de développement. Des phénomènes analogues ont été déjà signalés par d'autres auteurs et nous avons constatés nous-mêmes de semblables en 1958 sur des larves irradiées de *Tinea granella* L.

Les mêmes valeurs ont déterminé chez *S. oryzae* une diminution dans les émergences de respectivement 11 et 90 % et dans la descendance de 75 et de 98 %.

La valeur de 2.500 rad n'a pas eu d'effet sur la longévité de *S. granarius*, mais bien sur celle de *S. oryzae*. Chez cette dernière espèce le nombre de survivants après 3 semaines est tombé à 59 %.

La valeur de 5.000 rad a empêché toute émergence chez les deux espèces de calandres.

5. Sujets irradiés a l'état de larves en fin de croissance et de prénymphes (délai après ponte : 28 jours)

La dose de 1.000 rad n'a pas eu d'effet sur l'émergence de *S. granarius*

ni sur la longévité des adultes émergés, mais a réduit leur descendance totale de 36 %.

Elle a réduit l'émergence de *S. oryzae* de 17 % et leur descendance de 33 %.

La dose de 2.500 rad a réduit les émergences de *S. granarius* de 25 % et leur descendance totale de 45 %. Elle a réduit les émergences de *S. oryzae* de 20 % et leur descendance totale de 60 %.

Les doses de 5.000, 10.000 et 20.000 rad appliquées à ce stade de développement n'ont pu empêcher des émergences de *S. granarius* ni de *S. oryzae*. Pour le premier, elles ont atteint respectivement 24, 20 et 4 % de la population du témoin et pour le second 26, 17 et 0,6 %. Les adultes émergés ont succombé pour la grande majorité endéans les 3 semaines et n'ont pas eu de descendance

6. Sujets irradiés a l'état de nymphes et de jeunes adultes immatures (délai après ponte : 35 jours)

La dose de 1.000 *rad* n'a pas eu d'effet sur les émergences de *S. granarius* et de *S. oryzae*. Son influence sur le pouvoir de reproduction des animaux émergés a été très faible (14 % et 13 % de réduction). La dose de 2.500 rad a déterminé une faible diminution des émergences chez les deux espèces, une faible réduction de la descendance chez la première mais une très forte dépression de la progéniture chez la seconde (90 %).

La valeur de 5.000 rad a réduit les émergences chez *S. granarius* de 58 % et chez *S. oryzae* de 27 %. Les descendances ont été réduites respectivement de 92 et de 99 %.

Les doses de 10.000 et 20.000 rad n'ont pu empêcher un nombre encore important d'émergence chez *S. granarius* et chez *S. oryzae*.

Conclusions de la deuxième série d'essais : Résistance des stades juvéniles des calandres

Chez les deux espèces de calandre les stades de développement les plus résistants à l'action stérilisante des rayons γ sont les nymphes et les adultes.

L'application d'un traitement ionisant à la dose de 5.000-10.000 et 20.000 rad sur les calandres ayant atteint les stades : larve en fin de croissance, prénymphe, nymphe et adulte immature n'empêche pas entièrement l'émergence d'imagos. Ces derniers succombent pour la plupart dans les trois semaines. Des descendances très réduites n'ont été constatées que dans le cas de traitements de 5.000 rad, leur importance étant nettement moindre dans le cas de *S. oryzae* que dans celui de *S. granarius*.

L'exposition d'une population de calandres se trouvant à un stade quelconque de développement aux effets d'une irradiation à la dose de 5.000 rad suffit pour empêcher *quasi complètement* la multiplication des insectes. Dans le cas de *S. oryzae*, la dose de 2.500 rad réduit déjà considérablement la descendance. Il est vraisemblable qu'un traitement ayant une intensité de l'ordre de 3.500 rad pourra déjà suffire dans beaucoup de cas pour maîtriser la tendance à la multiplication de l'espèce.

Lorsque *S. oryzae* n'existe qu'à l'état d'œuf fraîchement pondu (2 jours), la simple exposition à la dose de 1.000 rad prévient 99 % des émergences d'adultes. Un résultat semblable est obtenu pour *S. granarius* lorsque la dose est portée à 2.500 rad. Dans les deux cas, les rares adultes obtenus paraissent stériles.

III. — Expériences de la 3e série

La troisième série des expériences a spécialement comme objectif la recherche de la limite inférieure d'intensité à prévoir pour stériliser les adultes des calandres soumises aux effets des radiations ionisantes.

Technique opératoire

Un lot de *Sitophilus granarius* L. adultes âgés de 1 à 3 semaines et un autre de *S. oryzae* adultes d'âge inconnu, provenant tous deux de nos élevages de laboratoire, ont été répartis séparément en groupes de 600 individus et enfermés dans des boîtes en matière plastique avec quelques grains de froment.

Une boîte de chaque lot n'a pas subi d'irradiation et a été conservée comme échantillon témoin. Les autres ont été soumises successivement aux doses de 1.000, 2.500, 5.000, 10.000, 20.000 et 50.000 rad. Les groupes d'animaux irradiés et les témoins ont été ensuite placés sur des grains sains (désinsectisés au préalable au bromure de méthyle) et ont été conservés dans une chambre d'élevage maintenue à une température et une humidité relative constantes (28° C et H.R. 70 %). Les grains ont été renouvelés à deux reprises, chaque fois après 3 semaines, permettant ainsi de distinguer trois périodes de pontes. Tous les échantillons ont été tamisés deux fois par semaine durant 13 semaines à partir des premières émergences ; les jeunes adultes récoltés ont été chaque fois dénombrés et éliminés. Les imagos qui ont subi l'irradiation ont été également dénombrés deux fois par semaine pendant 3 mois afin de vérifier la durée et le pourcentage de survie.

Commentaires

Les résultats obtenus avec *Sitophilus granarius* L. et avec *S. oryzae* ont été consignés respectivement dans les tableaux II et III. Les 5 dernières

Sitophilus granarius L.
600 adultes libres exposées aux rayons γ (Co 60)
Age : 7 à 21 jours

Tableau II

N°	Durée d'exposition	Flux intégré	Survie exprimée en % — Délais après l'irradiation (en jours)					Descendance	
			1 j.	11 j.	22 j.	28 j.	63 j.	Nombre	Proportion par rapport au témoin = 100
1		Témoin	99	98	98	96	95	7.350	100
2	3'' 3/10	1.000 rad	99	99	99	99	98	8.532	115
3	13'' 3/10	2.500 rad	98	97	93	93	89	7.458	101
4	30''	5.000 rad	99	98	60	58	51	360	5
5	63''	10.000 rad	100	92	2	0	0	4	0,05
6	130''	20.000 rad	99	84	2	1	1	66	0,9
7	330''	50.000 rad	100	78	1	0	0	0	0

Sitophilus oryzae L.
600 adultes libres exposés aux rayons y (Co 60)
Age : inconnu

Tableau III

N°	Durée d'exposition	Flux intégré	Survie exprimée en % — Délais après l'irradiation (en jours)					Descendance	
			1 j.	11 j.	22 j.	28 j.	63 j.	Nombre total	Proportion par rapport au témoin = 100
1		Témoin	94	64	61	60	41	7.528	100
2	3'' 3/10	1.000 rad	98	91	88	86	63	4.122	64
3	13'' 3/10	2.500 rad	97	94	92	92	65	973	13
4	30''	5.000 rad	97	82	60	58	35	148	2
5	63''	10.000 rad	98	26	1	1	1	109	1,4
6	130''	20.000 rad	98	13	1	1	1	84	1
7	—	—	—	—	—	—	—		—

colonnes des graphiques précédents (Fig. 6 et 7) et la figure 8 montrent l'importance respective de leur progéniture par rapport à celle des témoins correspondants. Les courbes de survie aux différentes doses d'irradiation sont représentées sous forme de graphiques (Fig. 9 et 10).

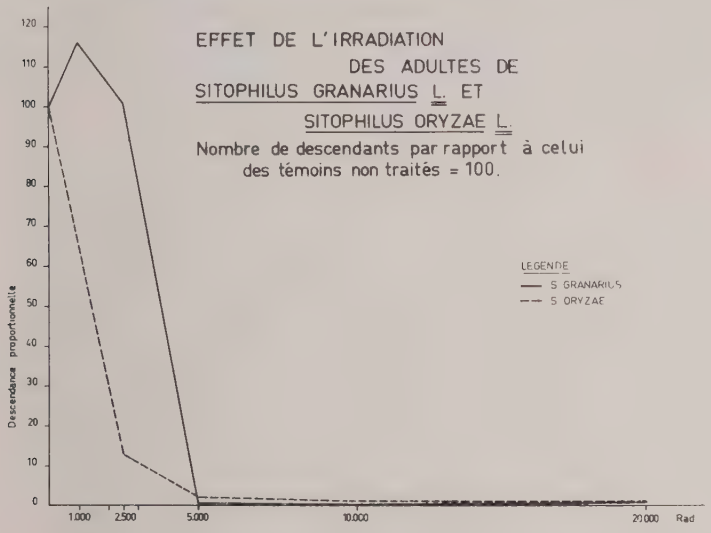


Fig. 8

Les doses de 1000 et 2500 rad n'ont apparemment pas influencé la longévité des individus irradiés. Ils n'ont pas eu d'effet sur la descendance dans le cas de *Sitophilus granarius* ; ils ont déterminé respectivement une réduction de 36 et 87 % dans le cas de *Sitophilus oryzae*.

La dose de 5.000 rad a réduit chez les deux espèces la survie de 40 % en trois semaines et a fait tomber leur descendance à un taux réduit (respectivement à 5 et 2 %).

Aux doses de 10.000 et 20.000 rad, quelques rares individus (sur 600) ont survécu pendant 3 semaines au traitement chez les deux espèces et ont donné lieu à une descendance négligeable (environ 1 %).

Conclusions de la troisième série d'essais: Résistance des adultes aux effets stérilisants

La dose de 5.000 rad appliquée aux adultes des deux espèces de calandre suffit pour réduire leur descendance à un taux très faible (5 et 2 %).

Aux doses de 10.000 et de 20.000 rad, le nombre de sujets survivant encore 3 semaines après le traitement appliqué aux lots de 600 adultes

a été dérisoire. Des descendants ont été encore obtenus, mais en nombre fort réduit (environ 1 %).

La confrontation de l'importance de la descendance obtenue pour les diverses intensités de traitement indique, dans le cas de *S. granarius*, la nécessité de dépasser 2.500 rad pour réduire la progéniture des sujets, l'effet de 5.000 rad étant cependant presque total. Par contre, dans le cas de *S. oryzae*, une action dépressive accentuée se marque dès le traitement à raison de 1.000 rad et elle atteint déjà une valeur très intéressante lorsqu'on opère à 2.500 rad.

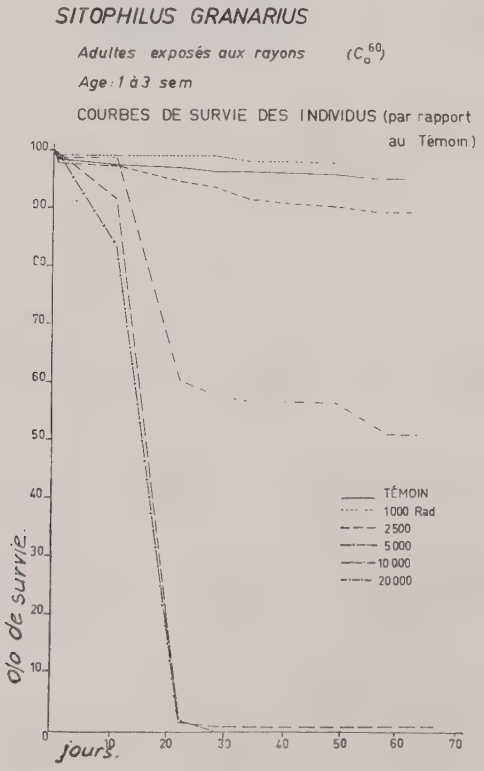


Fig. 9

Il s'ensuit que le traitement à la dose de 5.000 rad paraît pouvoir suffire souvent lorsqu'on se trouve en présence d'adultes de *S. granarius*. Cette limite pourrait être vraisemblablement ramenée à 3.500 ou 4.000 rad dans le cas de *S. oryzae*.

Pour ce qui concerne la longévité des adultes traités, il apparaît dans le cas de *S. granarius* relativement jeunes que l'exposition aux effets de 1.000 et 2.500 rad n'a guère eu d'influence tandis que ceux de 5.000 rad

ont été accusés et ont entraîné la mort de 40 % des sujets au cours des 3 premières semaines ; les doses plus fortes ont quasi anéanti la population pendant la même période.

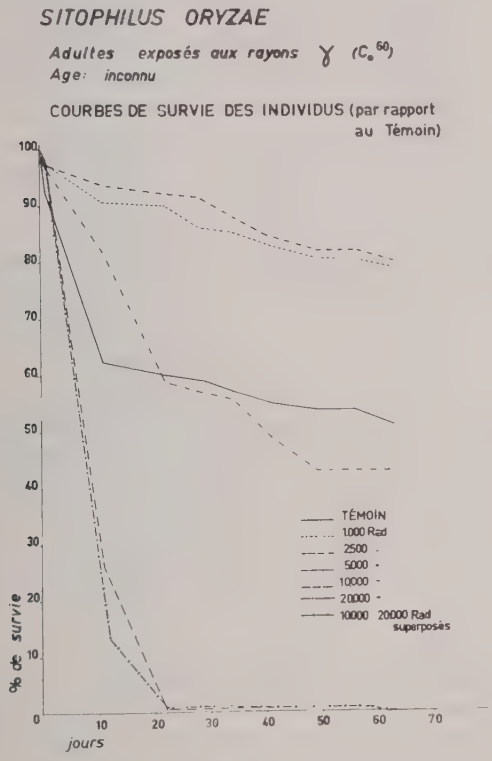


Fig. 10

Par contre, en opérant sur des adultes d'âges variés de *S. oryzae*, il a été observé que les échantillons traités aux intensités de 1.000 et 2.500 rad ont manifesté une courbe de survie nettement supérieure à celle du témoin non traité. L'opération menée à la dose de 5.000 rad a déterminé une courbe de survie analogue à celle du témoin alors que celles exécutées à 10.000 et 20.000 rad ont quasi anéanti la population en trois semaines.

Nous n'avons pas pu jusqu'ici, pour des raisons matérielles, vérifier par des répétitions de l'essai si l'anomalie constatée chez les adultes de *S. oryzae* non traités par rapport à ceux soumis à des traitements de faible intensité (1.000 et 2.500 rad) se confirme ou si elle résulte d'un fait occasionnel.

* * *

IV. — Discussion de l'ensemble des résultats obtenus

La confrontation de nos résultats avec les données puisées dans les diverses publications n'est pas toujours aisée. On se heurte à des mesures exprimées en unités différentes (roentgen, rep et rad), ce qui rend nécessaire le renouvellement des expériences (P. B. Cornwell 1958) (6). La disparité des méthodes utilisées pour apprécier les effets biologiques obtenus complique encore la situation. John D. Hilchey (1957) essaye de remédier aux incertitudes quant à l'effet léthal constaté parmi les sujets en le liant au facteur temps par la substitution du critère « T 50» au «DL 50», c'est-à-dire qu'il s'attache à fixer le temps nécessaire pour obtenir 50 % de mortalité parmi la population irradiée (8). Certains relèvent la mortalité après un délai arbitrairement fixé, variant selon l'auteur de 1 à 30 jours. D'autres ne mentionnent pas le moment du contrôle. Il s'ensuit une réelle confusion parmi les résultats publiés.

Nous avons cependant exprimé l'opinion que lors du traitement de grains destinés à l'emmagasinage, il importe essentiellement de stériliser la population car il n'y a guère d'intérêt à l'anéantir sans délai.

L. E. Brownell et *al.* (1955) relèvent que le traitement des céréales par une irradiation γ à l'intensité de 25.000 rep (20.750 rad) détruit les insectes qui les infestent (4). J. V. Nehemias et *al.* (1956) précisent qu'une dose ionisante de 10.000 rep suffit pour faire avorter les œufs et pour entraver la reproduction des insectes adultes vivant dans les grains (10).

Si nous considérons les données fournies par la documentation à propos des diverses espèces étudiées ainsi que les résultats que nous avons obtenus nous-mêmes dans des recherches non reprises dans cette étude, nous constatons l'existence d'une grande différence spécifique de résistance aux effets des traitements ionisants, tant appliqués à l'adulte qu'aux divers stades de développement successifs.

Les calandres figurent au rang des sujets relativement sensibles. Comme ils comptent parmi les espèces les plus nuisibles, les plus fréquentes dans les grains stockés et souvent les seuls responsables des dégâts infligés à la masse de vivres, il convient de s'assurer dans quelles limites ces types de traitements industriels répondent aux besoins.

Or, si nous consultons l'étude synthétique publiée en 1957 par John D. Hilchey au sujet de l'action des radiations ionisantes sur les insectes (8), nous constatons que les données réunies à propos de *Sitophilus granarius* et *S. oryzae* sont peu nombreuses.

Notre étude complète donc les informations relatives à ces espèces. Il convient de voir comment les résultats obtenus s'insèrent parmi les documents préexistants.

D'après John V. Nehemias, la dose de 600 rep est mortelle pour l'Homme (2). Reprenant les données fournies par d'autres auteurs, D. Hilchey cite les valeurs de 200 r et de 790 r comme DL. 50 pour, respectivement, le Cobaye et le Lapin. Il relève en outre les DL. 100 suivantes pour des adultes d'insectes : 10.000 rep pour *Acanthoscelides* sp. (Bruchidae) et 300.000 r pour *Habrobracon* sp (Hyménoptère) (9). La résistance de l'insecte est donc bien supérieure à celle des Mammifères et extrêmement variée.

P. B. Cornwell déclare qu'une application d'environ 500.000 rad tue les insectes en 24 h., que 100.000 rad les détruisent en 7 jours, que 15 à 20.000 rad les anéantissent en 3 semaines environ ; à cette dernière dose le développement des stades immatures est arrêté mais les adultes continuent à s'alimenter avant de succomber. En ce qui concerne les calandres, il relève pour *S. granarius* que 20 % des nymphes irradiées à raison de 20.000 rad achèvent leur métamorphose et parviennent au stade adulte (*) (ce qui ne paraît pas concorder avec l'affirmation précédente), qu'un traitement effectué à une dose supérieure à 5.000 rad sur des œufs et des larves prévient l'apparition des imagos (5). Il signale encore dans le cas de *S. oryzae* que les adultes soumis à une irradiation d'une intensité de 4500 rep (de l'ordre de 3735 rad) ne donnent lieu qu'à une très faible progéniture (7). Jefferies et Cornwell constatent que les adultes de *S. granarius* âgés de 7 à 12 jours n'ont qu'une descendance inférieure à 1 % après l'application de 5.666 rep (soit de l'ordre de 4703 rad) tandis que les larves de la même espèce, âgées de 7 à 12 jours, et subissant les effets d'un traitement ionisant à la dose de 4012 rep (soit de l'ordre de 3.330 rad) n'ont pas de progéniture (9).

Nos expériences nous ont fourni les résultats suivants :

Dans le cas de *S. oryzae* :

1) Si nous nous trouvons en présence d'œufs âgés de 2 jours ou moins, un traitement à la dose de 1.000 rad suffit pour assurer la destruction de 99 % des sujets. Les expériences de la 2e série n'ont fourni que 3 adultes qui n'ont pas eu de descendance.

2) Si nous nous trouvons en présence des divers stades juvéniles, y compris les nymphes et les adultes immatures, une dose de l'ordre de 3.500 rad suffit pour prévenir la multiplication de l'insecte (Expériences de la 2e série).

(*) Les résultats de nos expériences effectuées à 20.000 rad correspondent avec cette dernière citation. Nous avons obtenu en % d'émergence des adultes, 0,1 % pour les larves âgées irradiées (= 21 jours après la ponte = L. III), 4 % pour les larves en fin de croissance et les prénymphes (= 28 jours après la ponte), 21 % pour les nymphes et les adultes immatures (= délai après ponte : 35 jours).

3) Si nous nous trouvons en présence d'adultes, une dose de 5.000 rad suffit pour les stériliser quasi complètement (Expériences de la 3e série).

4) Si nous appliquons un traitement à raison de 10.000 rad, nous n'empêcherons pas les nymphes de fournir une proportion importante d'adultes survivant jusqu'à 3 semaines après leur émergence tandis que les adultes traités ne seront décimés qu'après 3 semaines, un certain nombre d'individus survivant encore 2 mois après l'intervention(Expériences de la 3e série).

Dans le cas de *S. granarius* :

1) Si nous nous trouvons en présence d'œufs âgés de 2 jours ou moins un traitement à la dose de 2.500 rad suffit pour assurer 98 % de destruction des sujets. Les expériences n'ont fourni que 15 adultes qui ont été mis en observation pendant 8 semaines sans laisser de descendance (Expériences de la 2e série).

2) Si nous nous trouvons en présence des divers stades juvéniles, y compris les nymphes et les adultes immatures, une dose de 5.000 rad suffit pour prévenir la multiplication de l'insecte (Expériences de la 2e série).

3) Si nous nous trouvons en présence d'adultes, une dose de 5.000 rad suffit pour les stériliser à peu après complètement (Expériences de la 3e série).

4) Si nous appliquons un traitement à raison de 10.000 rad, nous n'empêcherons pas un tiers des stades juvéniles proche de leur ultime métamorphose d'accéder au stade d'adultes libres et de survivre en grande partie pendant 2 semaines, tandis que les imagos soumis à la même exposition ne seront décimés qu'après 3 semaines, de rares individus pourront survivre encore 2 mois après l'intervention (Expériences de la 3e série).

En résumé, nous voyons que, pour l'espèce la plus sensible, *S. oryzae*, une exposition d'une valeur de 4.000 rad suffit pratiquement pour prévenir la pullulation de l'insecte pendant plusieurs mois, cette valeur étant portée à 5.000 rad pour l'espèce plus résistante (*S. granarius*). D'autre part, si les grains ne renferment que des œufs récemment pondus (ce qui pourrait être obtenu dans le cas de céréales contaminées à l'occasion d'un transport et débarrassées sans retard des géniteurs par un moyen mécanique), il suffirait de les soumettre aux effets des doses respectives de 1.000 et 2.500 rad pour neutraliser les effets de cet accident.

*
* *

Dès lors, nous constatons que les valeurs que nous avons trouvées s'alignent avec celles avancées par Cornwell et par Jefferies. Nous croyons cependant apporter une plus grande précision en rapport avec l'âge du sujet traité et avoir montré qu'on peut même dans certains cas descendre en dessous des intensités qu'ils citent.

Il convient, pensons-nous, d'attirer l'attention sur l'intensité relativement réduite requise pour prévenir la destruction des stocks de céréales par les calandres. Il ne nous paraît pas indiqué d'appliquer aveuglément à ces denrées des traitements ionisants d'une intensité supérieure à celle justifiée par la sensibilité de l'espèce à combattre. Nous avons notamment avantage à tirer profit de la fragilité particulière de l'œuf des calandres par rapport aux autres stades de développement, phénomène qui ne se rencontre pas chez toutes les espèces de déprédateurs (3) (*).

(*) D'après Bletchly, J. D., par exemple, les œufs d'un certain âge de divers Anobiidae, dont *Anobium punctatum* Deg. qui est un redoutable destructeur des bois ouvrés, sont beaucoup plus résistants à l'égard des effets des radiations ionisantes que les larves et les adultes.

RÉFÉRENCES

(1) Andersen, K. Th. : *Der Kornkäfer. Biologie und Bekampfung.* Berlin 1938.
(2) Anonyme : *The northwestern miller*, 20 nov. 1956.
(3) Bletchly, J. D. : *Proceedings tenth intern. Congress of Entomology*, Vol. 4, p. 385-389, 1956.
(4) Brownell, L. E., Harlin, H. A. and Nehemias J. V. : *Food technology*, 9, (12) p. 620, 1955.
(5) Cornwell, P. B. : *Food irradiation conference*, Harwell Berkshire, Nov. 1958.
(6) Cornwell, P. B. : *The scientist*, May 1958.
(7) Cornwell, P. B., Crook, L. J. and Bull, J. O. : *Nature*, 179, pp. 670-672, March 1957.
(8) Hilchey, J. D. : *Radiation preservation of Food*, U. S. Dept. of Commerce, Off. of Techn. Serv., PB 151493, pp. 240-266, 1957.
(9) Jefferies, D. Z. and Cornwell, P. B. : *Nature*, 182, pp. 402-403, Aug. 1958.
(10) Nehemias, J. V. and Bulmer, J. J. : *Baker's Digest*, p. 69, June 1956.
(11) van den Bruel, W. E. et Bollaerts, D. : *Parasitica*, 14 (1), pp. 28-40, 1958.
(12) van den Bruel, W. E. et Bollaerts, D. : *Revue de l'Agriculture*, 11 (6), pp. 981-987, 1958 .
(13) van den Bruel, W. E. : *Revue de l'Agriculture*, 13 (1), pp. 111-116, 1960.

Résumé

La résistance de ces deux espèces de calandres est nettement influencée par le stade de développement ayant subi le traitement. Les essais ont été effectués en laboratoire sur de grands nombres d'insectes d'âge connu.

Le stade œuf s'est révélé le plus sensible, la nymphe et l'adulte ont montré la plus grande résistance. Une irradiation de 20.0000 rad est encore insuffisante pour assurer l'anéantissement des nymphes et des adultes à l'intérieur des grains.

L'action léthale est obtenue pour une irradiation de plus faible intensité dans le cas de l'œuf de *S. oryzae* que dans celui de *S. granarius*. Il en est de même pour la larve I. La différence de résistance des deux espèces s'atténue ensuite en fonction de la progression de l'âge de l'insecte.

Pour les faibles irradiations (1.000 rad), l'effet sur la descendance n'est guère marqué pour les traitements exécutés sur les œufs et sur les larves I et II. L'action stérilisante se manifeste partiellement pour les expositions de 2.500 rad en ce qui concerne les divers stades, *S. oryzae* étant le plus sensible au phénomène. Il faut atteindre et dépasser 5.000 rad pour empêcher la reproduction des deux espèces.

Resistance of « Sitophilus granarius L. » and « S. oryzae L. » to γ radiations (Co^{60}), at various stages of their development

Summary

The resistance of these two species of *Calandra* is visibly conditioned by the stage of development which is under treatment. The tests were conducted in the laboratory on large numbers of insects of a known age.

The egg stage proved the most susceptible, the nymph and the adult offered the greater resistance. A 20.000 rad dose was insufficient for destroying all nymphs and adults inside the grains. On the contrary, in the case of *S. oryzae*, eggs two days old or less, practically do not give birth to any adult after being exposed to a dose of only 1000 rad.

The lethal action is obtained on eggs of *S. oryzae* with a lower radiation rate than on those of *S. granarius*. This is also the case with larva I. Then, the difference in resistance grows less gradually as the further stages of development are reached.

With low radiation rates (1.000 rad) the action on the offspring was hardly noticeable after irradiation of eggs and larvae I and II. The sterilizing action appears partly with a 2.500 rad rate at the various stages of development *S. oryzae* being the more susceptible species. For stopping reproduction in both species, 5.000 rad or more must be applied.

Widerstandsfähigkeit der verschiedenen Entwicklungstadien von « Sitophilus granarius L. » und « S. oryzae » gegen γ Bestrahlung (CO^{60})

ZUSAMMENFASSUNG

Die Widerstandsfähigkeit dieser beiden Kornkäferarten wird durchaus vom Enwicklungsstadium, in dem die Behandlung vorgenommen wurde, beeinflusst. Die Versuche wurden im Laboratorium an einer grossen Zahl von Insekten bekannten Alters durchgeführt.

Das Ei-Stadium hat sich als das anfälligste erwiesen, das Puppenstadium und der Jungkäfer in der Puppenwiege haben den grössten Widerstand gezeigt.

Eine Bestrahlung mit 20 000 rad ist noch nicht ausreichend für die Zerstörung alle Puppen und ausgewachsenen Insekten im Innern des Korns.

Die zerstörende Wirkung wird im Eistadium des *S. oryzae* mit einer viel schwächeren Bestrahlung erzielt als bei *S. granarius*. Dasselbe gilt für die Larve I. Der Unterscheid im Widerstand bei den beiden Arten verringert sich mit fortschreitendem Alter des Insekts.

Bei den schwachen Bestrahlungen (1 000 rad), die an den Eiern und den Larven I und II durchgeführt worden sind, wurde kaum eine Wirkung auf die Nachkommenschaft festgestellt. Die sterilisierende Wirkung tritt in den verscheidenen Stadien teilweise bei Bestrahlung mit 2 500 rad auf, wobei sich *S. oryzae* als am anfälligsten erweis. Um die Vermehrung dieser beiden Arten zu verhinderen, müssten 5 000 rad und mehr erreicht werden.

L'action mutagène du ^{32}P chez le dactyle (*)

par R. De Loose
Attaché de Recherches (IRSIA)
et H. Reyntens
Directeur, Station de recherches de l'État pour l'Amélioration des plantes, Lemberge (Belgique)

Introduction

L'utilisation des mutations induites comme moyen d'amélioration des espèces fourragères soulève plusieurs problèmes.

Tandis que chez l'autogame, tel que l'orge, l'autofécondation naturelle de la génération traitée (X_1, R_1, γ_1, N_1...) permet d'obtenir rapidement les mutants à caractère récessif à l'état homozygote, il n'en est pas ainsi chez le végétal hétérogame.

D'abord il faut rechercher la mutation induite parmi un polymorphisme très élevé à cause de l'hétérozygotie naturelle. Au contraire, chez l'autogame les individus de la deuxième génération présentent tous le même aspect phénotypique. Par conséquent il sera toujours osé d'attribuer un aspect phénotypique changé ou bien une réaction physiologique différente soit au traitement soit à une nouvelle combination des gènes.

Une première possibilité chez les hétérogames réside dans le fait d'une *autofécondation obligée* par séparation des inflorescences de la génération traitée. Cette technique soulève la question d'un emballage d'inflorescences individuelles ou bien en groupes par plante. Dans le premier cas on aura peut-être plus de chances de rapprocher la ségrégation d'un autogame c.à.d. 95 à 96 % de descendants normaux d'une plante X_1 hétérozygote pour une mutation génique récessive. A cause du taux de travail réparti sur une période bien courte, c.à.d. la floraison, la première génération devra être réduite. Dans le cas d'une séparation globale par plante on peut compter sur une nouure améliorée et le moindre travail permettra la culture d'un nombre plus élevé de plantes X_1. Par contre on se trouve devant l'augmentation du rapport de ségrégation (diminution des chances de détection des mutants) à cause du caractère chimérique de la plante mutante en X_1. Il est

(*) Recherches subsidiées par l'Institut pour l'Encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture. (I.R.S.I.A.).

évident qu'une telle technique suppose une autocompatibilité suffisante, laquelle néanmoins, présente plus de chances de diminuer que d'augmenter avec le traitement. Nous avons pu constater que la noure est très variable : 50 % et plus des plantes de la première génération (inflorescences individuelles enveloppées) ne donnent pas de descendance. Environ 10 % des plantes R_1 donnent une descendance suffisante.

En utilisant cette technique il faudra toujours tenir compte du fait que le gène récessif peut déjà exister dans la population, mais à cause de l'hétérogamie il n'est pas à même de se manifester. De telle sorte le but recherché pourrait peut-être être obtenu sans traitement, par simple endogamie, dans une population suffisamment grande.

Une deuxième possibilité est offerte par *l'hétérogamie continuée* pendant plusieurs générations. On essaie d'obtenir soit un mutant à caractère dominant (p. e. le *Brassica napus oleifera* obtenu en Suède qui présente une teneur en huile plus élevée) soit, en 3e génération au plus tôt, un caractère récessif à l'état homozygote, suite à une pollinisation entre deux plantes porteuses du même caractère récessif à l'état hétérozygote. Le grand inconvénient réside dans le fait qu'il est impossible de distinguer phénotypiquement les deux plantes portant le même caractère récessif à l'état hétérozygote. Quant aux mutations à caractère dominant, celles-ci n'ont pas encore été constatées jusqu'ici chez l'orge. Normalement le gène mutant tend à être récessif. Peut-être que le génotype joue un grand rôle là-dedans. Dans les générations successives il est possible de renouveler oui ou non le traitement aux rayons.

En dernier lieu il est possible chez les cultures à caractère hétérozygote de traiter des parties végétatives (des boutures, des bulbes, des tubercules...) dans l'espoir d'évoquer une mutation somatique (chimère) laquelle sera multipliée soit par voie végétative, soit par voie sexuelle. Un caractère récessif peut alors s'exprimer comme un secteur muté (Aa → aa).

En conclusion on est sûr qu'à cause du traitement chez les sujets hétérogames l'hétérozygostie de la population augmentera davantage.

But de la recherche

Le dactyle est connu comme une espèce bien productive mais présentant, surtout dans un stade plus avancé de la croissance, un aspect plutôt scabrifolié. Cette rugosité est causée par la présence de dentelures de silice sur les feuilles. De telle sorte cette espèce est moins appétée par le bétail et les qualités digestives n'en seront pas facilitées non plus. Notre matériel de départ ne contenait pas une seule plante édentée.

Nous nous sommes proposés, par l'utilisation du ^{32}P comme agent mutagénique, d'éliminer cette rugosité. Puisqu'il s'agit d'un caractère récessif, nous avons été obligés d'emballer les inflorescences afin d'éviter l'hétéropollinisation.

Induction des mutations au moyen de ^{32}P

Comme les effets chimiques et biologiques des radiations X et gamma résultent des ionisations causées par les électrons éjectés, la possibilité existe d'atteindre ce but en bombardant directement les tissus avec des électrons de haute énergie cinétique. De tels électrons sont émis par plusieurs isotopes radioactifs (émetteurs bêta). Puisqu'on dispose maintenant de plusieurs isotopes des éléments nutritifs de la plante (tels que le phosphore et le soufre) on peut incorporer ces émetteurs bêta dans la structure même des gènes. A côté de l'effet de la radiation on peut s'attendre aussi à un effet de transmutation (l'atome phosphore dans la molécule des acides nucléiques devient un atome de soufre : $^{32}_{15}P \rightarrow {}^{32}_{16}S$).

Selon la nature de l'isotope, peuvent varier : le taux d'absorption et de distribution dans la plante ; la densité d'ionisation (nombre de paires d'ions par unité de parcours de la radiation) laquelle est différente selon qu'il s'agit d'émetteurs alpha, bêta ou gamma ; la durée du traitement laquelle est déterminée par la période physique et biologique.

Un grand inconvénient de l'utilisation des isotopes réside dans le fait qu'il est impossible d'arrêter le traitement au moment voulu (comme avec les rayons X). Également n'aura-t-on qu'une idée vague de la dose absorbée par les tissus (rep ou rad).

Technique

Le ^{32}P sans porteur, sous forme chimique H_3PO_4, a été ajouté à une solution nutritive de Knop (sans P_2O_5) donnant les concentrations suivantes :

Traitement	$RIII_0$	$RIII_{40}$	$RIII_{80}$	$RIII_{120}$	$RIII_{160}$
Concentration Micro-Curies/cm³	0	40	80	120	160

Dans un bécher (100 cm³) on a ajouté à du sable bien lavé (70 cm³) 12,5 cm³ de chaque concentration. 100 semences du dactyle Lemba R.v.P. ont été mises à germer. Après 4 semaines de croissance on a ajouté du phosphore inactif : 10 cm³ d'une solution contenant 0,25 g KH_2PO_4/1 par bécher. L'eau évaporée a été régulièrement renouvelée. Les plantules ont été repiquées en serre après 6 semaines en attendant la plantation en plein champ.

A côté de ce premier essai deux autres furent effectués notamment :

a) RIV_{35} :

Il s'agissait d'une absorption du ^{32}P pendant 6 semaines dans des boîtes de Pétri (4 boîtes avec chacune 60 semences) contenant 70 cm^3 du sable bien lavé + 20 cm^3 d'une solution de Knop sans P_2O_5 additionnée d'une teneur de 35 micro-Curies de $^{32}P/cm^3$. On n'a pas traité au phosphore inactif.

b) RIV_{100} :

L'absorption du ^{32}P pendant 6 semaines a été effectuée dans une boîte de Pétri sans sable contenant 10 cm^3 d'une solution de Knop sans P_2O_5 à 100 micro-Curies/cm^3. 500 semences ont été mises à germer dans cette solution. Après 4 semaines on a appliqué un traitement au phosphore inactif : 10 cm^3 d'une solution de 0,25 g KH_2PO_4 l.

Résultats

La figure 1 montre bien l'effet nocif de doses croissantes de ^{32}P sur la croissance des plantules.

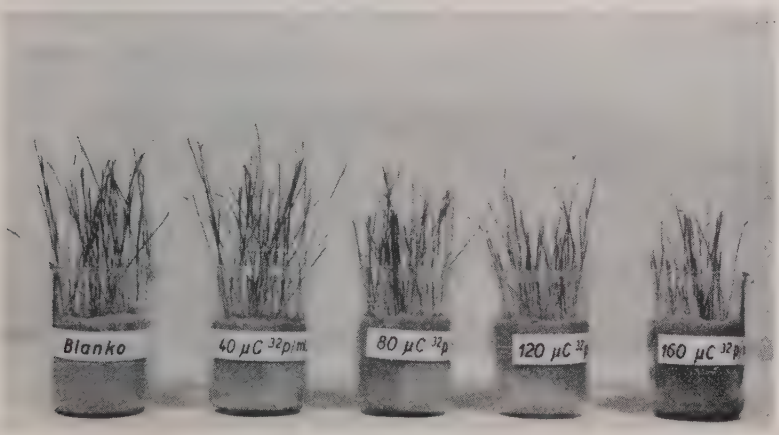


Fig. 1

Le nombre des plantes survivantes est repris au tableau I.

Nous n'étions pas à même de mesurer le taux d'absorption du ^{32}P par les plantules à cause du fait qu'il fallait les suivre pour l'étude des mutations.

Dans la première génération déjà (R_1) on a pu constater des chimères *striata* c.à.d. des plantes présentant des secteurs plus ou moins grands avec des feuilles à bandes longitudinales blanches et jaunes.

TABLEAU I

Traitement	Plantes survivantes		Chimères en R_1 (striata)		Plantes avec inflorescences emballées	Nombre total d'inflorescences emballées	Plantes R_1 avec descendance (**)		Nombre de descendances R_2 avec mutants chlorophylliens	
	Chiffres absolus	%	Chiffres absolus	%			Chiffres absolus	%	Chiffres absolus	%
$RIII_0$	64	100	0	0	× (*)	112	×	×	×(***)	×
$RIII_{40}$	40	76	1	2,50	37	457	19	51	2	11
$RIII_{80}$	15	51	2	13,33	14	121	5	36	0	0
$RIII_{120}$	11	47	0	0	10	104	6	60	0	0
$RIII_{160}$	14	50	2	14,29	13	118	3	23	1	33
RIV_{35}	37	50	1	2,70	31	382	17	55	6	35
RIV_{100}	62	47	1	1,61	53	489	23	43	1	4
Sommes des plantes traitées	179	—	7	—	158	1671	73	—	10	—

(*) Les inflorescences provenant de plusieurs plantes ont été groupées ensemble pour le traitement RIII0 (blanco).

(**) Environ 50 % des plantes R_1 ne donnent pas une descendance et seulement chez 10 % on obtient une descendance suffisamment élevée (voir tableau II). On obtient en moyenne 2 plantules X_2 pour 3 inflorescences emballées.

(***) On a obtenu 2 plantes R_2 sur 58 présentant des mutations chlorophylliennes (voir tableau II).

La figure 2 en donne un exemple.

Les pourcentages sont repris au tableau I.

Chez chaque plante survivante on a essayé d'isoler autant d'inflorescences individuelles que possible afin d'obtenir un gène mutant et récessif à l'état d'homozygotie en R_2. Les semences obtenus ont été classifiées par descendance. En total 1671 inflorescences provenant de 158 plantes R_1 furent emballées. La descendance comportait 676 plantules R_2 dont 355 survécurent en plein champ. Il est à noter que le nombre de plantes R_1 avec descendance était fortement réduit à cause de l'autopollinisation obligée. Sur 158 plantes R_1, seulement 73 ont donné une descendance. (voir Tableau I). Chez ces derniers seulement 10 % environ ont donné une descendance suffisamment grande.

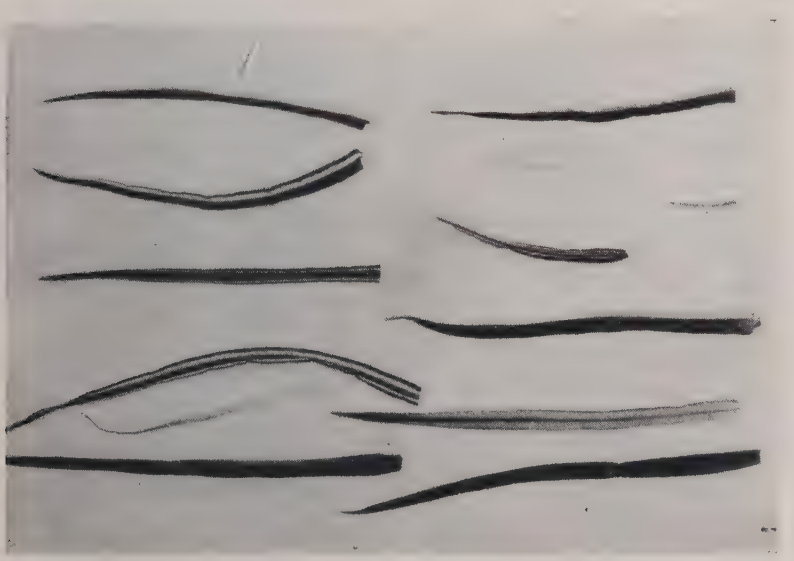


FIG. 2

Le faible taux de survie des plantules R_2 (voir le tableau II) démontre la vitalité très réduite des semences obtenues par autofertilisation obligée.

Chez les plantules R_2 on a noté le taux des mutants chlorophylliens (*albino*, *striata*, *xantha*, *viridis*). Les résultats figurent aux tableaux I et II. Les inflorescences des plantes R_2 ont été emballées (une dizaine environ en groupe par plante) afin de suivre la 3e génération.

TABLEAU II

Traitement	Plantes R_1 avec inflorescences emballées	Nombre total d'inflorescences emballées	Nombre total de plantules de R_2	Plantes R_2 survivantes		Plantules R_2 avec mutations chlorophylliennes	
				Chiffres absolus	%	Chiffres absolus	%
$RIII_o$	×	112	58	24	43	2	3,44
$RIII_{40}$	37	457	152	96	63	4	2,63
$RIII_{80}$	14	121	12	2	17	—	—
$RIII_{120}$	10	105	27	9	33	—	—
$RIII_{160}$	13	118	116	79	68	2	1,72
	(12+1)(*)	(108+10)	(16+100)	(0+79)	(0+79)	(0+2)	(0+2)
RIV_{35}	31	382	175	89	51	12	6,86
	(30+1)	(367+15)	(65+110)	(28+61)	(41+56)	(6+6)	(9,23+5,45)
RIV_{100}	53	489	194	80	41	1	0,52
	(50+3)	(456+33)	(63+131)	(30+50)	(48+38)	(0+1)	(0+0,76)
Somme des plantes traitées	158	1671	676	355	—	19	—

(*) Les nombres scindés en deux valeurs désignent des cas d'une nouure bien au delà de la moyenne (plus de 2 plantules par inflorescence) p. e. 1 plante R_1 avec 10 inflorescences emballées donne 100 plantules R_2 dont 79 survivent.

TABLEAU III

Traitements	Nombre d'inflorescences	Nombre de semences	Nombre moyen de semences par inflorescence	Nombre de plantules R_2	Pouvoir germinatif en %	Nombre de mutants chlorophylliens en R_2	
						Chiffres absolus	%
$RIII_{40}$	32	11.100	347	3.548	—	10	0,28
$RIII_{80}$	11	3.600	325	832	26	2	0,21
$RIII_{120}$	7	3.000	429	1.076	36	1	0,09
$RIII_{160}$	7	2.700	385	1.106	41	3	0,27
RIV_{35}	17	4.200	335	1.092	26	2	0,18
RIV_{100}	34	8.400	247	3.334	20	1	0,03
Somme	108	33.000	—	11.088	—	19	—

De plus on a récolté chez certaines plantes R_1 une inflorescence non emballée et on les a classifiées par traitement. Les résultats sont représentés dans le tableau III.

Quelques plantes ont été trouvées en R_2 présentant un aspect plus mou mais pas encore entièrement édentées : le bout de la feuille présente encore les dents de silice.

Pour le moment on est en train de suivre la 3e génération.

Résumé

Le but final de nos recherches sur la mutagénèse chez le dactyl pelotonné est l'obtention d'un mutant « édenté ». La plante normale présente notamment, surtout dans un stade plus avancé de la croissance, une certaine rugosité à cause des dentelures de silice se trouvant sur les feuilles. Puisqu'il s'agit d'un caractère récessif on est obligé, chez cet hétérogame,d'effectuer l'autofertilisation de la génération R_1 (isolation des inflorescences).

L'effet génétique du traitement au ^{32}P se manifestait déjà à la R_1, par l'apparition de plantes présentant des secteurs chimériques avec bandes longitudinales blanches et jaunes sur les feuilles (mutants chlorophylliens striata).

Par isolation d'environ 1700 inflorescences, séparément, on a obtenu en R_2 un nombre très restreint (676) de plantules. Parmi ces derniers on a trouvé quelques plantes avec un aspect plus mou mais pas encore entièrement « édentées ». D'autre part on a suivi également en R_2 environ 11.000 plantules obtenues par pollinisation naturelle (hétérogame) parmi lesquelles on a trouvé aussi quelques types donnant plus de satisfaction.

On est en train de suivre la 3e génération.

Mutagenic action of ^{32}P on cocksfoot

Summary

The final object of our work on mutagenesis in cocksfoot is the production of a « toothless » mutant. In a more advanced stage of development, the normal plant exhibits a certain rugosity due to the presence of silica teeth on the leaves. As this character is recessive one is forced, with this heterogamous plant, to carry out self-fertilization of the R_1-generation (isolation of inflorescences).

The genetic effect of the ^{32}P treatment was already apparent in the R_1 because of the presence of plants showing diffuse sectors with white and yellow longitudinal bands on the leaves (chlorophyllic striata mutants).

By separate isolation of about 1700 inflorescences a very limited number (676) of seedlings were obtained in the R_2. Among those a few plants were found having a smoother appearance but not completely « toothless ». On

the other hand about 11.000 R_2-seedlings resulting from natural pollination (cross-pollinated) were examined and a few more satisfactory types were found.

The 3rd generation is now being followed up.

Mutagener Einfluss von ^{32}P bei Dactylis

ZUSAMMENFASSUNG

Das Endziel unserer Untersuchungen der Mutagenese beim Knaulgras war das Erhalten einer « zahnlosen » Mutante. Die normale Pflanze weist besonders im vortgeschrittenen Wachstumsstadium eine gewisse Rauheit auf die von verkieselten Zähnen auf den Blättern herrührt. Da es sich hierbe, um ein rezessives Merkmal handelt, muss bei dieser heterogamen Pflanzei eine Selbstbefruchtung der R_1-Generation (Isolierung der Blütenstände) vorgenommen werden.

Eine genetische Wirkung der ^{32}P-Behandlung zeigt sich schon in der R_1 durch das Auftreten von chimären Pflanzen mit weissen und gelben Längstreifen auf den Blättern (striata Chlorophyllmutanten).

Durch getrennte Isolation von etwa 1700 Blütenständen wurde in der R_2 eine sehr kleine Sämlingszahl (676) erhalten. Unter diesen wurden einige Plfanzen mit einem weicheren, jedoch nicht gänzlich zahnlosen Erscheinungsbild festgestellt.

Ferner konnten durch natürliche Bestäubung (Heterogamie) in der R_2 etwa 11000 Jungpflanzen erhalten werden, unter welchen einige Typen zufriedenstellender waren. Die Prüfung der 3. Generation wird in Angriff genommen.

Les techniques générales de mesure en physique nucléaire

par R. Trivière
Ingénieur civil, Chef de Section, ACEC, Charleroi (Belgique)

I. — Introduction

La détection d'une particule nucléaire est le résultat d'un échange d'énergie sous sa forme la plus générale entre la particule et le milieu détecteur. Cet échange d'énergie peut s'effectuer de façon très différente suivant qu'il s'agit de particules chargées, de photons, ou de neutrons.

Dans le premier cas — particules chargées, α, β protons et mésons — l'effet le plus exploité est l'ionisation d'un milieu gazeux contenu dans le détecteur.

Dans le second cas — rayonnement électromagnétique — le passage de la particule dans le milieu détecteur donne lieu aux effets photoélectriques, Compton ou à la formation de positrons et d'électrons par matérialisation de l'énergie ; les probabilités respectives d'occurrence de ces divers effets sont fonctions de l'énergie du photon et de la nature du milieu détecteur. Ces trois effets s'accompagnent de l'émission d'un électron et quoiqu'en principe, la détection des photons puisse alors s'effectuer en exploitant l'ionisation créée par cet électron, on utilise le plus souvent des scintillateurs solides (excitation) dont le rendement de conversion énergétique par unité de volume est notablement plus élevé que celui des détecteurs à gaz.

En ce qui concerne la détection des neutrons, il faut immédiatement distinguer le cas de neutrons thermiques de celui des neutrons rapides. Les neutrons thermiques sont détectés grâce aux réactions nucléaires ou de fission qu'ils provoquent dans un milieu détecteur. Il pourra s'agir par exemple, de la réaction n (B, L) α ou de la fission de l'Uranium enrichi en U 235. Quant aux neutrons rapides, ils donnent lieu au recul d'un noyau dans des matériaux de faible numéro atomique-collision au cours de laquelle le neutron cède la totalité ou une fraction de son énergie.

Ici encore, le produit de la réaction nucléaire ou de fission, ou le recul du noyau, est susceptible d'ioniser les atomes d'un milieu gazeux, ou d'exciter un milieu solide.

On se trouve ainsi ramené à l'analyse de deux phénomènes physiques, à savoir l'ionisation des gaz et l'excitation de milieux scintillants solides ou liquides.

2. — Détecteurs à ionisation

La densité d'ionisation par unité de longueur de trajectoire d'une particule chargée dans un gaz est fonction de la masse et de la charge de la particule, ainsi que de la pression et de la nature du gaz, constituant le milieu détecteur. Dans tous les cas cependant, l'énergie moyenne nécessaire pour produire une paire d'ions est approximativement égale à 30 ev. Dans ces conditions, une particule chargée de 30 Kev par exemple libérant la totalité de son énergie dans le volume sensible d'un détecteur va produire 10.000 paires d'ions, ou encore, une charge électronique Qo égale à $10^4 \times 1{,}6\ 10^{-19}$ Cb. soit $1{,}6\ 10^{-15}$ Cb.

Pour collecter la charge produite et obtenir ainsi un signal mesurable, on dispose deux électrodes à l'intérieur du milieu détecteur et on leur applique une différence de potentiel suffisante pour éviter tout effet de recombinaison.

1. *Chambre d'ionisation*

Dans le cas le plus simple, qui est celui de la chambre d'ionisation, si l'on soumet le détecteur alimenté en haute tension à travers une résistance R à un flux de particules nucléaires, on observe les phénomènes suivants :

- Collection quasi instantanée des électrons par l'anode du détecteur, le front de montée de l'impulsion électrique résultante étant de l'ordre de 0,1 microseconde.
- Induction progressive d'une charge croissante à l'anode au fur et à mesure que la gaine d'ion positif se déplace vers la cathode où elle se neutralise.
- Recharge exponentielle de la capacité associée au détecteur (capacité propre plus capacité des câbles de liaison) avec une constante de temps égale à RC.

L'amplitude maximum v_m de l'impulsion de tension à l'anode du détecteur est égale à $Q_o/_C$. On remarquera que l'impulsion atteint 50 % de sa valeur maximum en un temps très court, la collection des électrons s'effectuant en effet beaucoup plus rapidement que celle des ions positifs (vitesses de déplacement très différentes compte tenu des masses respectives).

Ce qui précède permet de calculer l'énergie minimum que doit posséder une particule pour pouvoir être détectée par une chambre d'ionisation travaillant en impulsions. Il faut préciser tout d'abord que le bruit de fond des amplificateurs électroniques ne peut guère être ramené à une valeur inférieure à 10 microvolts et que la capacité propre du détecteur est de l'ordre de 20 10^{-12} Farads. Considérant alors que l'impulsion de tension pouvant être détectée doit être supérieure au bruit de fond de l'amplificateur (20 microvolts par exemple), on calcule l'énergie minimum de la particule de la façon suivante :

$$v_m = 20\ 10^{-6} = \frac{Qo}{20.10^{-12}} \qquad Qo = 4\ 10^{-16}\ \text{Cb.}$$

$$N = \frac{4.10^{-16}}{1{,}610^{-19}} = 2.500\ \text{électrons.}$$

$$E_{min} = 2.500 \times 30 = 75\ \text{Kev.}$$

Pour permettre la détection d'une particule isolée qui dissipe moins de 75 Kev dans le volume sensible du détecteur, il faut avoir recours à un procédé d'amplification sans bruit de fond, c'est-à-dire à *la multiplication dans le gaz* de la charge électronique primaire Qo.

2. *Compteur proportionnel*

Quand les électrons sont accélérés vers l'anode d'une chambre d'ionisation, l'énergie cinétique acquise par accélération entre deux collisions est en général dissipée lors du choc sans modification de l'état électronique des atomes du gaz.

On conçoit cependant qu'il existe une valeur critique du champ électrique (pour une pression partielle donnée qui conditionne le libre parcours moyen des électrons dans le gaz) au delà de laquelle l'énergie cinétique acquise par l'électron entre deux chocs successifs devient suffisante pour provoquer une nouvelle ionisation ou ionisation secondaire. Si dès lors, ^{m} représente le nombre de chocs ionisants qu'un électron peut subir sur son parcours, la charge électronique primaire Qo va se trouver multipliée par un coefficient de multiplication dans le gaz A égal à 2^m. Les détecteurs travaillant dans ces conditions sont appelés *Compteurs proportionnels*, et, si l'on observe que les coefficients de multiplication pouvant être atteints en pratique sont de l'ordre de 10^5, on voit apparaître la possibilité théorique de détecter des particules nucléaires produisant une seule ionisation ; en pratique cependant, l'absorption du rayonnement dans la fenêtre du détecteur ou dans la source elle-même reporte la limite à quelques centaines d'électron-volts ou plus.

Observons encore que pour un détecteur donné, le coefficient de multiplication A est uniquement fonction de la tension appliquée au détecteur et que par conséquent, et en utilisant des alimentations HT bien stabilisées, la charge totale $Q = AQ_0$ collectée à l'anode est rigoureusement proportionnelle à l'énergie dissipée par la particule nucléaire dans le volume sensible.

En ce qui concerne la forme de l'impulsion électrique, les considérations faites pour la chambre d'ionisation restent valables ici si l'on remplace Q_0 par Q.

Observons encore que l'impulsion de tension reste de faible amplitude : reprenant en effet le calcul précédent pour une particule d'énergie égale à 7,5 KeV et un coefficient de multiplication dans le gaz de 10^4, on voit que l'amplitude obtenue atteindra seulement 20 millivolts.

Pour obtenir une amplitude supérieure, on fait appel non plus au mécanisme de multiplication dans le gaz, mais à une véritable décharge dans les compteurs Geiger Müller ; l'augmentation d'amplitude étant toutefois obtenue aux dépens de la proportionnalité énergie-amplitude réalisée dans les compteurs proportionnels.

3. *Compteurs Geiger Müller*

Dans un compteur proportionnel, les dimensions géométriques et la tension appliquée limitent le champ critique au voisinage du fil (anode) ; l'amplitude des impulsions est ainsi indépendante de l'endroit où s'est produite l'ionisation primaire et dans tous les cas, la décharge reste naturellement localisée au droit du point de passage de la particule dans le volume sensible (section radiale). Si l'on augmente la tension appliquée, la charge d'espace créée par la gaine d'ions positifs devient de plus en plus importante et finit par réduire le champ électrique au voisinage du fil à un point tel que la proportionnalité amplitude-énergie n'est plus respectée, le compteur travaille dans la *zone semi-proportionnelle*. Si l'on dépasse cette valeur de saturation, on finit par créer des conditions favorables à l'extension de la décharge sur toute la longueur du fil. Dès lors, il suffit d'un seul électron primaire pour obtenir une impulsion de tension aussi grande que celle qui serait obtenue par une ionisation primaire Q_0 importante et le compteur travaille en *compteur Geiger Müller*.

Dans un tube GM type, il est courant d'obtenir une charge totale de l'ordre de 10^{-9} à 10^{-10} Cb, qui sur capacité de 10^{-11} Farads produira une impulsion de tension de plusieurs dizaines de volts, ceci indépendamment de l'énergie libérée par la particule détectée dans le volume sensible. Un autre désavantage du compteur GM est son temps mort très élevé si on le compare à celui des chambres d'ionisation travail-

lant en impulsions et aux compteurs proportionnels ; alors que dans ces détecteurs, la localisation de la décharge et la faible valeur de l'ionisation totale Q permettent la détection de particules se succédant en un temps très court (une fraction de microseconde), la réduction du champ électrique par la charge d'espace importante créée dans un tube GM rend le compteur insensible pendant un temps mort de l'ordre de 100 à 300 microsecondes. Ces divers aspects limitent l'utilisation des compteurs GM aux quelques cas où la précision de mesure n'est guère importante par rapport à la simplicité de l'appareillage.

3. — Détecteur à scintillation

Une particule nucléaire traversant un milieu détecteur solide ou un cristal cède la totalité ou une fraction de son énergie aux atomes du milieu. Si le cristal est bien adapté au rayonnement à détecter, une partie de l'énergie transmise se retrouve sous la forme de photons visibles, dont le nombre est proportionnel à l'énergie perdue par la particule dans le volume sensible du détecteur (scintillateur). Quoique l'énergie nécessaire pour produire un photon visible varie un peu plus que dans le cas des détecteurs à ionisation, on peut estimer sa valeur moyenne à 30 ev. L'émission des photons visibles en fonction du temps n'est pas instantanée, mais commence par croître très rapidement pour ensuite décroître suivant une courbe assimilable à une exponentielle et donnée par l'équation :

$$dN = n_0 \, e^{\frac{-t}{T_0}} \, dt \qquad (1)$$

ou dN représente le nombre de photons émis pendant le temps dt, T_0 la constante de temps de décroissance particulière au cristal (0,25 micro-seconde par exemple pour (Na I) Th) et n_0 une constante dépendant à la fois de l'énergie de la particule et de la nature du scintillateur.

Dans les détecteurs à scintillation, le cristal est disposé devant un photomultiplicateur constitué d'une photocathode, de n dynodes en cascades soumises à des potentiels croissants et d'une anode collectrice.

Les photons émis par le cristal sont reçus par la photocathode et provoquent par effet photoélectrique l'émission de N_0 électrons. Le rendement quantique ø dépend de la sensibilité de la couche photosensible (en général Caesium Antimone), mais ne dépasse guère 10 %. Les électrons primaires sont accélérés et focalisés sur la première dynode, ils donnent lieu alors à l'émission d'électrons secondaires avec un rendement R qui est proportionnel à la différence de potentiel V appliquée entre dynodes (R = kV) ; le même phénomène se repro-

duit successivement pour chacune des n dynodes et il est facile de voir que dans ces conditions : N_0 $(kV)^n$ électrons finissent par être collectés par l'anode sur laquelle apparaît une impulsion de tension d'amplitude maximum $\frac{N_0 e (kV)^n}{C}$.

Le photomultiplicateur agit donc comme un amplificateur de charge électronique de gain $G = (kV)^n$. En règle générale, le coefficient d'émission secondaire est compris entre 3 et 4 et permet d'obtenir avec 10 à 11 dynodes des gains allant jusque 10^6. Remarquons encore que toute variation de la tension appliquée au photomultiplicateur entraîne une variation très importante du gain G (en différentiant les deux membres de l'expression $G = (kV)^n$ on obtient $\frac{dG}{G} = n \frac{dV}{V}$, une variation de 1 % de la tension appliquée à un PM à 10 dynodes produit donc une variation de 10 % du gain).

Résumant les notions précédentes et supposant que le rendement optique du détecteur à scintillateur et le rendement de collection des électrons sur la première dynode atteignent 100 % (valeur pratique 80 à 90 %) on peut calculer l'amplitude maximum V_m de l'impulsion apparaissant à l'anode d'un PM de gain $G = 10^6$ et de capacité $C = 20\ 10^{-12}$ Farads, pour une particule libérant une énergie E de 10 KeV dans le volume sensible.

$$N = \frac{E}{30} = \frac{10^4}{30} = 330 \text{ photons visibles.}$$

$$No = 330 \times 0{,}1 = 33 \text{ électrons.}$$

$$V_m = \frac{33 \times 10^6 \times 1{,}610^{-19}}{20\ 10^{-12}} = 0{,}25 \text{ volts.}$$

En règle générale, on ne travaille guère qu'avec un gain de 10^4 ou moins et ceci pour éviter tout phénomène de fatigue (le courant anodique moyen doit rester inférieur à 10^{-7} ampères). En tout état de cause cependant pour les détecteurs à scintillation, la limite minimum d'énergie n'est plus déterminée par le bruit de fond des amplificateurs électroniques associés mais par le bruit de fond du photomultiplicateur lui-même.

Il faut remarquer en effet que la photocathode et les dynodes d'un PM émettent des électrons par effet thermoélectronique, effet de champ, etc... ; ce flux d'électrons est amplifié au même titre que ceux provenant d'un signal utile, et il apparaît à l'anode du PM, un spectre d'impulsions parasites très riche en composantes de faible énergie (contribution des premières dynodes). L'existence de ce phénomène situe

approximativement à 1 KeV l'énergie minimum des particules pouvant être détectées, en utilisant les techniques d'impulsions.

4. — Amplificateurs d'impulsions — analyseurs

On a vu que, d'une façon générale, les impulsions de tension fournies par les détecteurs de particules se caractérisent par un temps de montée τ très court, suivi d'une décroissance exponentielle de constante de temps RC, R désignant la charge anodique et C la capacité présentée par rapport à la masse.

L'équation générale d'une impulsion de tension v (t) est donc de la forme :

$$v(t) = v_m \left(1 - e^{\frac{-t}{\tau}}\right) e^{\frac{-t}{RC}} \qquad (2)$$

ou si l'on suppose pour simplifier que le temps de montée est infiniment court

$$v(t) = v_m \; e^{\frac{-t}{RC}} \qquad (3)$$

Ces impulsions sont distribuées au hasard dans le temps ; en d'autres termes et en considérant un intervalle de temps dt à un temps t suivant une impulsion donnée, la probabilité p pour que l'impulsion suivante survienne dans l'intervalle, peut se calculer par la formule de Poisson qui s'écrit :

$$p = p\,(t)\,dt = ne^{-nt}\;dt \qquad (4)$$

où n représente le taux moyen de comptage.

On remarquera d'ailleurs que la formule se simplifie si le temps t est petit par rapport à l'intervalle moyen entre impulsions ($t \leqslant \frac{1}{n}$), et devient :

$$p = ndt.$$

On voit ainsi, par exemple, que la probabilité pour que deux impulsions se succèdent en moins de 10^{-6} s, lorsque le taux moyen de comptage vaut 10^4 imp/sec., est égal à 1 % ($10^{-6} \times 10^4$).

Calculons maintenant la valeur moyenne de la tension résultant de la superposition au hasard dans le temps de n impulsions de la forme : (3) c'est évidemment $\overline{v(t)} = n \int_0^\infty v_m e^{\frac{-t}{RC}}\,dt$

ou encore : $\overline{v(t)} = nRCv_m$.

A cette valeur moyenne se superposent des fluctuations statistiques de tension dont la valeur standard v_f peut être calculée par le théorème de Campbell :

$$v_f^2 = \overline{(v(t) - \bar{v}(t)^2} = n \int_0^\infty [v(t)]^2 \, dt.$$

ou encore : $$v_f = \sqrt{\frac{nRC}{2}} \; v_m \qquad (5)$$

En règle générale (sauf pour les PM où l'on peut procéder dans certains cas, à une différentiation directe en réduisant la charge d'anode), on choisit la valeur de R (C étant imposé) de façon à ce que $RC \geqslant \tau$; dans ce cas, on obtient à l'anode du détecteur une impulsion de tension d'amplitude pratiquement égale à v_m.

Considérons l'exemple pratique d'un détecteur à scintillation à cristal d'iodure de sodium activé au thallium ($\tau = 0{,}25 \; 10^{-6}$) dont la charge d'anode est égale à 2.10^6 et pour lequel $C = 10^{-10}$ Farads ($RC = 2.10^{-4}$ sec). Pour un taux moyen du comptage de 10^4 imp/sec. la fluctuation de tension standard (probabilité égale à 67,4 %) atteint

$$v_f = \sqrt{\frac{10^4 \; 2.10^6 \; 10^{-10}}{2}} \; v_m = v_m$$

Si l'on observe encore que la probabilité d'obtenir des fluctuations égales à 3 fois la valeur standard vaut 0,25 %, on constate que la tension maximum résultant de *l'empilement statistique* des impulsions peut atteindre dans le cas pratique présent 3 fois la valeur v_m.

Ce phénomène n'est guère gênant si l'on ne considère que l'aspect *saturation* des amplificateurs linéaires d'impulsions qui succèdent au détecteur. Si on désire toutefois que les impulsions amplifiées soient analysées en amplitude avec une précision de l'ordre de 1 %, on voit qu'il est nécessaire de réduire la fluctuation standard de tension à moins de 1 % de la valeur v_m.

Il faut par conséquent *différentier* l'impulsion avant d'attaquer un discriminateur ou un analyseur d'amplitude et réduire le taux moyen de comptage. En règle générale, la différentiation s'opère après le préamplificateur, c'est-à-dire à l'entrée des amplificateurs linéaires, ceci afin d'éliminer les ondulations de tension et autres bruits à basse fréquence d'origine électronique inhérents aux préamplificateurs.

Désignons dès lors par R_1C_1 la constante de temps de différentiation choisie et par $v_d(t)$ l'équation générale de l'impulsion différentiée, on a :

$$v_d(t) = v_m \, e^{\frac{-t}{RC}} \, e^{\frac{-t}{R_1C_1}}$$

ou si l'on observe que $R_1C_1 \ll RC$

$$v_d(t) = v_m \; e^{\frac{-t}{R_1C_1}}$$

De la même façon que précédemment, on peut établir que la fluctuation standard de l'impulsion différentiée vaut :

$$v_{df} = \sqrt{\frac{n\,R_1C_1}{2}}\; v_m \quad (6)$$

Reprenons l'exemple précédent et imposons-nous une fluctuation standard inférieure à 1 %. Dans ces conditions :

$$\sqrt{\frac{n\,R_1C_1}{2}} < 10^{-2}$$

ou encore $n\,R_1C_1 < 2\;10^{-4}$.

Si nous fixons $R_1C_1 = 10^{-6}$ s, le taux moyen de comptage doit rester inférieur à 200 c/s. On peut naturellement diminuer la constante de temps de différentiation lorsque l'on désire travailler à plus haut taux de comptage, mais il faut remarquer que l'on atteint finalement une limite imposée par le bruit de fond des amplificateurs. De plus, la diminution de R_1C_1 réduit l'amplitude v_m disponible, ce qui augmente le rapport v_{fd}/v_m. Toujours dans l'exemple précédent, si nous choisissons $R_1C_1 = \tau = 0{,}25\;10^{-6}$ s, v_m se trouve réduit à 50 % environ de sa valeur maximum (obtenue pour $R_1C_1 \geqslant T$) et dans ces conditions, le taux de comptage maximum ne peut être porté qu'à 500 c/s et non à 1000 c/s comme les équations précédentes le laissaient entrevoir (Dans certains cas de détection de faible énergie par P.S. la constante de temps de différentiation est imposée, et on peut montrer, en effet, que le rapport signal bruit maximum est obtenu pour $R_1C_1 = t$).

Nous avons fixé à dessein une précision d'analyse d'amplitude de 1 % pour faire apparaître, de façon démonstrative, l'effet d'empilement des impulsions. En pratique cependant, un autre phénomène d'un ordre de grandeur plus important vient marquer les écarts d'amplitude dus à l'effet d'empilement (résultant comme nous l'avons vu de la *distribution statistique des impulsions dans le temps*), il s'agit des fluctuations statistiques d'amplitude dues au mécanisme de collection des électrons dans le détecteur lui-même. Nous avons vu, en effet, qu'une particule nucléaire détectée libérait une charge électronique $Q_0 = Ne$, directement dans le volume sensible lorsqu'il s'agissait de compteurs proportionnels ou au niveau de la photocathode des PM dans le cas des compteurs à scintillation. Le nombre N d'électrons libérés étant également soumis à des fluctuations statistiques, il est clair que l'impulsion v_m

(proportionnelle à Q_0) va varier en amplitude autour d'une valeur moyenne.

L'écart standard relatif d'amplitude σ est égal à $\frac{1}{\sqrt{N}}$ et prend des valeurs d'autant plus importantes que l'énergie E de la particule est faible ($\sigma = \frac{k}{\sqrt{E}}$).

Calculons par exemple, l'écart standard T obtenu lors de la détection d'un photon X d'énergie égale à 10 Kev, dans le cas d'un CP et d'un PS.

$$\text{C.P.} \quad N = \frac{10^4}{30} = 330 \qquad \sigma = \frac{1}{\sqrt{330}} = 5{,}5\ \%$$

$$\text{P.S} \quad N = \frac{10^4 \times 0{,}1}{30} = 33 \quad \sigma = \frac{1}{\sqrt{33}} = 17{,}5\ \%$$

Ces valeurs sont théoriques car dans le CP le coefficient A de multiplication dans le gaz n'est pas rigoureusement constant en raison des irrégularités du fil d'anode et de défauts de centrage ; de la même façon le gain G d'un PM est soumis à certaines fluctuations (statistique de l'émission secondaire des premières dynodes, etc...).

Les meilleures valeurs pratiques de σ sont ainsi respectivement de 6 à 7 % pour le CP et de 20 à 25 % pour les PS.

C'est principalement cette dispersion d'amplitude qui limite les techniques de spectrométrie (analyse différentielle d'amplitude) ; l'analyse spectrale d'un rayonnement polychromatique n'est possible que dans la mesure où les énergies sont très distinctes (sans tenir compte de l'effet perturbateur du Compton) ; dans le cas contraire en effet le recouvrement graphique des pics photoélectriques exclut toute possibilité de déchiffrement. Pour des raisons de commodité en spectrométrie, on exprime souvent les fluctuations statistiques d'amplitude en terme de *pouvoir énergétique de résolution* ; le pouvoir de résolution étant défini par $\frac{\Delta E,}{E}$ si E représente l'énergie moyenne (sommet d'un pic photoélectrique) et ΔE la différence d'énergie à mi-hauteur. Étant donné la distribution gaussiène d'amplitude il est facile d'établir que le pouvoir de résolution énergétique $\frac{\Delta E}{E} = 2{,}36\ \sigma$

Dans l'exemple précédent en pratique, les pouvoirs de résolution énergétiques atteignent respectivement 14 à 17 % pour le CP et 50 à 60 % pour le PS.

Remarquons en passant que ce qui précède permet de définir rationnellement les domaines préférentiels d'utilisation des CP et P.S en

spectrométrie (en observant encore que la spectrométrie n'est possible que pour autant que la totalité de l'énergie de la particule soit dissipée dans le volume sensible du détecteur). Le compteur proportionnel est très supérieur au photoscintillateur pour les énergies inférieures à 100 Kev ; le photoscintillateur est seul utilisable aux énergies supérieures.

5. — Indicateurs digitaux et analogiques

La mesure des taux de comptage peut s'effectuer par voie digitale ou analogique. Dans les deux cas, la distribution statistique des intervalles de temps entre impulsions implique l'utilisation d'appareils présentant un temps de résolution T_r approprié aux taux de comptage maxima que l'on désire mesurer. Il est facile d'établir la relation existant entre le taux de comptage n_c indiqué par un appareil possédant un temps de résolution T_r et le taux de comptage réel n_r. Au comptage d'un coup succède en effet une période d'insensibilité T_r durant laquelle aucun coup ne peut être compté, le temps moyen d'insensibilité par seconde est donc égal à $n_c T_r$, on peut écrire par conséquent :

$$n_c = n_r (1 - n_c T_r).$$

ou encore : $$n_r = \frac{n_c}{1 - n_c T_r} \quad (7)$$

Si l'on veut ainsi que le taux de comptage mesuré soit égal au taux de comptage réel à 1 % près, et que la valeur maximum escomptée de n_c s'élève à 10^4 c/s ; la formule (7) montre que T_r doit être inférieur à 1 microseconde (10^{-6} secondes). Ceci pour autant que le temps de résolution T_r soit plus grand que le temps mort propre du détecteur utilisé (cas des compteurs proportionnels et à scintillations). Lorsque par contre, on utilise des compteurs GM dont le temps mort varie de 100 à 300 microsecondes suivant le type de tube et ne conserve pas une valeur constante, il devient nécessaire d'intercaler entre le détecteur et l'indicateur, un circuit électronique fixant le temps mort de comptage sans ambiguité à une valeur supérieure au temps mort propre du tube GM (l'utilisation d'un pareil circuit présente encore de multiples avantages tels l'élimination de coups parasites, l'augmentation de la vie du détecteur, etc...). La formule (7) reste applicable et on voit que des mesures à 1 % près, si le temps mort fixé est de 200 microsecondes, ne sont possibles que si n_c reste inférieur à 50 c/s ; pour des valeurs supérieures les résultats de mesure doivent faire l'objet d'une correction.

Il faut encore remarquer que la distribution statistique des impulsions dans le temps ne permet pas d'obtenir une mesure absolument précise des activités. Si n désigne le nombre de coups moyen obtenu par une mesure infiniment longue et n le nombre de coups obtenu par

une mesure finie, il y a 67,4 % de chances pour que n soit compris dans les limites $n \pm \sqrt{n}$, $\sqrt{n}$ étant l'écart standard et apparaissant comme un terme d'erreur (on définit encore l'erreur la plus probable de probabilité égale à 50 % et l'on montre qu'elle est égale à 0,674 $\sqrt{n}$)

Lorsque effectuant une série de mesures, il est nécessaire que l'erreur statistique reste constante, il faut totaliser pour chacune d'entre elles le même nombre de coups.

Il est alors indispensable d'utiliser des indicateurs digitaux à présélection du nombre de coups comportant une minuterie électronique qui indique le temps nécessaire pour obtenir le nombre de coups prédéterminés. Ces mêmes compteurs fonctionnent également en présélection du temps de mesure, celui-ci étant défini avec une précision généralement meilleure que 2,5 millisecondes.

Les indicateurs analogiques fournissent directement l'indication du taux de comptage moyen sur un appareil de mesure étalonné en coups par seconde et sont généralement utilisés lorsque l'on s'intéresse aux variations du taux de comptage moyen dans le temps (relevé automatique de spectres d'énergies, de courbes de fixation de radioéléments, etc...) et à son enregistrement ; la distribution statistique des impulsions se manifeste ici par des fluctuations de l'indication autour de la valeur moyenne ; on peut réduire l'importance de ces fluctuations statistiques en augmentant l'inertie de ces appareils par l'addition d'un circuit intégrateur de constante de temps RC ; il est facile de calculer la fluctuation standard relative f par la formule $f = (2\,nRC)^{\frac{1}{2}}$ dans laquelle n désigne le taux de comptage. On remarquera toutefois que la réduction des fluctuations s'effectue toujours aux dépens de la rapidité de réponse, le passage d'une indication à une autre ayant lieu suivant une loi exponentielle de constante de temps égale bien entendu à RC. Cette remarque doit être présente à l'esprit lorsque l'on choisit par exemple la vitesse de balayage d'un spectromètre automatique ou de tout autre dispositif d'exploration (goniomètre d'interférence en analyse par diffraction de RX etc...) si l'on veut éviter de trop grandes erreurs de distorsion à l'enregistrement.

Ajoutons enfin qu'en ce qui concerne les alimentations haute tension généralement incorporées aux indicateurs digitaux ou analogiques elles se caractérisent par une stabilité de l'ordre de 0,1 °/₀₀ et par un débit maximum de plusieurs milliampères.

La nécessité d'une stabilisation aussi poussée est évidente si l'on se rappelle que les photoscintillateurs présentent des variations relatives de gain 10 fois plus importantes que les variations de tension ; une stabilité de tension de 0,1 °/₀₀ assurera la stabilité de gain de 1°/₀₀ nécessaire à la spectrométrie de précision.

Résumé

Après avoir présenté sous une forme générale le schéma de principe d'une installation type de mesure nucléaire, l'on analyse quelles sont les caractéristiques éventuelles que doivent posséder les éléments constitutifs.

La nature du rayonnement et les conditions particulières de la mesure permettent de choisir le détecteur le mieux adapté au problème et de définir un rendement global de détection. L'appareillage électronique peut être alors déterminé ; suivant la sensibilité demandée l'on utilisera des équipements de comptage ou de spectrométrie.

Les limites de précisions que l'on peut obtenir par ces deux méthodes sont dégagées et commentées dans quelques cas particuliers.

L'influence du temps de résolution et de divers facteurs tels que la stabilité de mesure, l'erreur statistique, etc..., est analysée.

General measurement techniques in nuclear physics

Summary

Following the presentation in general terms of the basic outline of a standard nuclear measurement installation, the eventual characteristics which the constituant elements must possess, will be analized.

The nature of the radiation involved and the particular conditions under which measurements have to be made, make it possible to select the most suitable detector for the problem at hand to determine the gross useful effect of the detection. The electronic apparatus can then be determined ; according to the required sensitivity, counting or spectrometric equipment will be used.

The degree of accuracy which can be obtained by those two methods are outlined and discussed for a number of particular cases.

The influence of the recovery time and of various factors such as the measurement stability, statistical error etc. is discussed.

Die hauptsächlichen Messungsmethoden in der Kernphysik

Zusammenfassung

Nachdem man in genereller Weise das Schema der Grundregel der Kernmessung behandelt hat, analysiert man, welches die etwaigen Eigenschaften sind, die die Bestandteile besitzen müssen.

Die Eigenschaft der Strahlung und die besonderen Bedingungen der Messung ermöglichen es, den für dieses Problem am besten geeigneten Detektor zu wählen und den Gesamtertrag der Detektion zu bestimmen : Man kann dann das Elektronengerät wählen ; je nach der erforderten Empfindlichkeit wird man dann ein Zählgerät oder ein spektrometrisches Instrument anwenden.

Die Präzisionsgrenzen, die man durch diese zwei Methoden erreichen kann, sind behandelt und ausgelegt für einige besondere Fälle.

Der Einfluss der Zeit der Resolution und verschiedenen Faktoren, wie die Stabilität der Messung, der statistische Irrtum, usw. werden behandelt.

La mesure des faibles activités de rayonnement

par J. Grassart
Ingénieur Technicien U. T. Ch., Chef du Laboratoire d'Instrumentation nucléaire des ACEC, Charleroi (Belgique)

1. — Généralités

Nous définirons la faible activité de rayonnement par le fait que le taux de comptage du système de détection en l'absence de source n'est pas négligeable devant le taux de comptage du même système en présence de la source à mesurer. Il en découle donc que ce taux de comptage parasite R_B s'ajoutera au taux de comptage R_S constituant la mesure, et que nous ne pourrons retrouver la valeur nette que par soustraction. Étant donné qu'une même installation ne peut faire simultanément la mesure des deux termes $(R_S + R_B)$ et R_B, la soustraction n'aura de sens que pour autant que le taux de comptage du bruit de fond reste constant pendant la durée des mesures.

2. — Les causes du bruit de fond

Le bruit de fond peut avoir pour cause, soit la collection de parasites électromagnétiques par l'installation électronique généralement à haute sensibilité, soit encore l'action de sources de rayonnement indésirables sur le détecteur. Dans le cas de photoscintillateurs, on peut encore distinguer le mouvement thermique électronique propre du photomultiplicateur.

La collection éventuelle de parasites électromagnétiques pose un grave problème, car le taux de comptage moyen qui en résulte n'est pas à priori constant, ce qui empêche de faire une mesure valide par différence. Heureusement, par une conception soignée du matériel, des blindage électromagnétiques et des filtres adéquats, on parvient à rendre l'appareillage de mesure pratiquement insensible à ce type de parasites pour autant, toutefois, qu'ils soient d'intensité raisonnable.

On s'assurera de l'insensibilité aux perturbations électromagnétiques en mettant l'installation en service, sans appliquer la T.H.T. au détecteur.

Les sources de rayonnement indésirables qui peuvent agir sur le détecteur sont principalement :

1. — les autres sources présentes dans le laboratoire,
2. — les dérivés du radon et du thoron en suspension dans l'air,
3. — les retombées consécutives à l'exposition d'engins nucléaires,
4. — les rayonnements cosmiques,
5. — certains constituants du détecteur.

Il est généralement facile, par blindage et par éloignement, de se protéger contre les perturbations dues aux sources présentes dans le laboratoire. Le problème principal semble être ici la discipline de travail.

L'activité des dérivés du radon et du thoron est variable dans des très larges limites, mais les gamma produits ne sont heureusement pas à très haute énergie, de telle sorte qu'il est possible de s'en protéger par blindage.

Les retombées consécutives à l'explosion d'engins nucléaires sont mal connues, et ont un spectre vraisemblablement fort variable avec les conditions de l'explosion. Quoi qu'il en soit, elles tendent heureusement à se raréfier et les retombées résiduelles sont actuellement à longue demi-vie, donc constantes.

Le rayonnement cosmique est connu pour avoir une activité remarquablement constante, surtout en ce qui concerne sa composante dure. Des variations atteignant au maximum 3 % sur la composante totale peuvent se produire lors d'orages magnétiques en moyenne une fois par mois. Étant donné qu'il est principalement constitué de particules chargées (mésons) pour lesquelles existent des détecteurs à excellent rendement, le rayonnement cosmique peut éventuellement être éliminé par une ombrelle de détecteurs en anti-coïncidence, ou bien encore par discrimination énergétique (spectrométrie).

Les impuretés radioactives éventuellement incluses dans les constituants du détecteur sont nécessairement à longue période, sinon elles disparaîtraient rapidement. Leur contribution peut donc être considérée comme constante sur un laps de temps assez long.

On peut donc, au total, considérer comme constant le bruit de fond d'un appareillage de mesure de qualité, stable et adéquatement blindé.

3. — Les fluctuations statistiques

L'émission de particules par une source radioactive étant un phénomène erratique, une certaine erreur statistique se superposera à toute mesure nucléaire.

On peut montrer que l'écart absolu E_p, qu'on a une probabilité p de ne pas dépasser, croît comme la racine carrée du nombre de coups comptés $\sqrt{N}$ ce qui permet d'écrire :

$$E_p = K\sqrt{N} \quad (1)$$

où K est un coëfficient qui ne dépend que de p.

p est souvent appelé « facteur de confiance » puisqu'il exprime la probabilité que l'erreur faite sur une mesure soit bien comprise dans la marge définie par l'équation (1). On peut aussi définir un « facteur de méfiance M », d'écriture plus facile, et qui est le complément de p. La figure 1 donne la valeur de K en fonction de M.

En faisant K = 1, on trouve $E_p = \sqrt{N}$, qui est appelé « erreur réduite » ou « erreur normalisée ». La courbe 1 montre que ceci correspond à un facteur de méfiance de 32 % ou, encore, à un facteur de confiance de 68 %.

En faisant K = 2, on trouve $Ep = 2\sqrt{N}$, ce qui correspond à un facteur de méfiance de 4,5 %, ou encore un facteur de confiance de 95,5 %. Ce facteur de confiance est souvent adopté dans les travaux de radiochimie.

Si, au lieu d'envisager l'erreur absolue, on considère l'erreur relative, on peut écrire qu'elle vaut :

$$e_p = \frac{E_p}{N}$$

ou encore : $c_p = \dfrac{K}{\sqrt{N}} \quad (2)$

Inversément, si on se fixe une erreur relative e_p et un facteur de méfiance M, auquel correspond un coefficient K, on est amené à totaliser un nombre de coups donné par :

$$N = \frac{K^2}{e^2} \quad (3)$$

Si R est le taux de comptage moyen et t le temps de mesure, N = Rt, et on peut déduire de (3)

$$t = \frac{K^2}{e^2 R} \quad (4)$$

4. — La mesure de faibles activités

Nous avons vu, au paragraphe 1, que la mesure de faibles activités nécessitait la mesure séparée du bruit de fond R_B et du taux de comptage en présence de la source $(R_B + R_S)$. Le paragraphe 3 nous a

appris d'autre part, que toute mesure était entachée d'une erreur relative inversément proportionnelle à la racine carrée du nombre de coups totalisés. Il est clair que les erreurs des deux mesures se combineront pour donner l'erreur totale de mesure.

On peut rechercher quel est le temps à consacrer à chacune des deux mesures afin d'atteindre, dans un minimum de temps, une précision donnée par un facteur de confiance déterminé. Cette question a été bien étudiée par Loevinger et Berman (*).

Cependant, il arrive souvent qu'on ait une série de mesures à faire dans un laps de temps relativement court. C'est le cas qui se présente en biologie lors de l'examen d'échantillons prélevés sur une série de sujets. Il est alors intéressant de déterminer le bruit de fond par une ou deux mesures prolongées, donc précises, qui précèdent ou encadrent la période de mesure des échantillons. On peut d'ailleurs effectuer ces mesures la nuit de manière à ne pas perdre de temps de travail. Cette procédure permet donc de connaître le bruit de fond avec une erreur négligeable par rapport à l'erreur sur $(R_B + R_S)$.

Nous allons examiner de plus près ce cas de mesure, de grande utilité pratique.

5. - Détermination du temps de mesure, quand le bruit de fond est connu

L'erreur sur la mesure du bruit de fond étant négligeable, la précision finale dépendra uniquement de celle de $(R_S + R_B)$.

Si on se fixe un facteur de confiance qui entraîne un coefficient K, l'erreur relative sur une mesure vaudra :

$$e = K \sqrt{\frac{N_S + N_B}{N_S}}$$ où : N_S : nombre de coups comptés dûs à la source

N_B : » » » » au bruit

$$e = K \sqrt{\frac{1}{N_S} + \frac{N_B}{N_S^2}}$$

en appelant t le temps de mesure, il vient :

$$e = K \sqrt{\frac{1}{R_s t} + \frac{R_B}{R_s^2 t}}$$

$$e = K \sqrt{\frac{1}{t}\left(\frac{1}{R_s} + \frac{1}{r}\right)} \quad (4) \text{ avec } r = \frac{R_s^2}{R_B}$$

(*) Efficiency criteria in radioactivity counting. *Nucleonics*, Juillet 1951, p. 26-39.

Si on suppose le bruit nul, $\frac{1}{r}$ est nul et on retrouve la formule (2). Le terme $\frac{1}{R_S}$ représente donc la contribution à l'erreur des fluctuations statistiques de la source, et le terme $\frac{1}{r}$ la contribution des fluctuations du bruit de fond.

De (3), on tire aisément

$$t = \frac{K^2}{e^2} \left(\frac{1}{R_S} + \frac{1}{r} \right) \quad (5)$$

6. — Détermination des paramètres de mesure

6. 1. *Généralités*

Le taux de comptage d'un appareil peut être considéré comme le produit de son rendement de comptage par l'activité réelle de la source.

On peut donc écrire :

$R_S : \eta_s \, R'_S$ où η_S : rendement du détecteur pour le rayonnement à mesurer.

$R_B : \eta_B \, R'_B$ η_B : rendement du détecteur pour le bruit

R'_S : activité réelle de la source.

R'_B : activité réelle du bruit.

Considérons la formule (5). Quand $R_S = R_B$, la contribution des deux termes $\frac{1}{Rs}$ et $\frac{1}{r}$ au temps de mesure est identique. Dans ces conditions en effet, $\frac{1}{r} = \frac{1}{R_S}$

Pour des mesures où R_S beaucoup plus grand que R_B, $\frac{1}{R_S}$ sera le terme prépondérant et la diminution du temps de mesure sera obtenue par l'augmentation de η_S, sans autre considération. Remarquons que l'annulation $\frac{1}{r}$ dans la formule (5) ramène à la formule (4).

Pour des mesures où R_B beaucoup plus grand que R_S, $\frac{1}{r}$ sera le terme prépondérant. L'augmentation de r peut être obtenue par l'augmentation de η_S ou par la diminution de η_B.

Examinons les paramètres susceptibles d'influencer ces deux grandeurs.

6. 2. *Le blindage*

Le fait d'entourer le détecteur d'un blindage diminue évidemment le bruit de fond, mais peut aussi augmenter le rendement du détecteur, dans le cas des mesures gamma. En effet, des photons ayant donné lieu à comptage par effet Compton peuvent être réfléchis par le blindage et comptés une seconde fois. A titre d'exemple un cristal puit de Na I (Tl) de $1\frac{1}{2}'' \times 2''$ blindé sur près de 4 Π donne un rendement de 120 % sur l.'I ^{131} si le seuil de comptage intégral est abaissé aux environs de 30 Kev. Si le blindage entoure la source sur près de 4 Π, le taux de réflexion du rayonnement ne sera pas exagérément sensible à la position de la source dans le blindage, et des mesures répétitives pourront être obtenues par cette méthode.

L'action du blindage sur η_B se marquera par la suppression des composantes molles du bruit. Il n'y aura pratiquement aucun action sur la composante due au rayonnement cosmique, sauf emploi de masses de blindage sortant du domaine courant.

A titre d'indication, dans les conditions de mesure indiquées ci-dessus, un blindage de 50 mm. de Pb permet d'obtenir un bruit de fond de l'ordre de 6 impulsions par seconde. Cela signifie qu'on aura un taux de comptage utile égal à celui du bruit de fond pour des solutions de l'ordre de 1,5 10^{-11} C/ml remplissant un puit de 10 ml.

6. 3. *Les dispositifs d'anticoïncidence*

Nous venons de voir qu'un bindage adéquat permettait d'éliminer les composantes molles du bruit, ne laissant subsister principalement que les sources de bruit intérieures au blindage et la composante dure du rayonnement cosmique. Cette dernière étant composée principalement de particules chargées (mésons) pour lesquelles de nombreux détecteurs ont un rendement voisin de l'unité, on pourra utiliser pour supprimer leur effet une «Ombrelle» de détecteurs montés en anticoïncidence avec le détecteur principal.

De cette manière, tout rayonnement cosmique dur, influençant simultanément l'« ombrelle » et le détecteur principal, sera éliminé du comptage. Idéalement, l'ombrelle d'anticoïncidence doit être blindée contre une grosse partie de l'activité extérieure, sinon il risque de se produire beaucoup de coïncidences fortuites qui diminuent la sensibilité η_s du détecteur. Elle doit également être protégée contre le rayonnement de la source, sinon le dispositif d'anticoïncidence fonctionnera également pour le rayonnement issu de la source, ce qui conduit également à une diminution de η_S.

L'augmentation de poids et de prix qui découle de la nécessité de double blindage de l'« ombrelle » limite l'utilisation de ce dispositif.

D'autre part, si le double blindage est négligé, il se produit une diminution de η_S qui restreint l'intérêt du procédé.

6. 4. *Les détecteurs sélectifs*

Dans le cas de radiations à très forte densité d'ionisation ou d'excitation, comme le rayonnement alpha et les produits de fission, on peut améliorer les conditions de mesure en utilisant des détecteurs minces qui absorbent une énergie primaire suffisante du rayonnement de source, mais absorbent pratiquement pas des rayonnements perturbateurs moins ionisants. On peut citer comme exemples de ce genre de détecteur, les cristaux Zn S pour la détection alpha et les chambres à fission.

6. 5. *La réduction du spectre de comptage*

Dans le cas où le détecteur utilisé est du type proportionnel c'est-à-dire dans le cas où l'amplitude de l'impulsion produite est proportionnelle à l'énergie dissipée dans le détecteur, on peut améliorer les conditions de mesure par la sélection des impulsions à compter en fonction de leur taille.

Les impulsions les plus grandes que peut donner un détecteur sont celles qui proviennent de la conversion photoélectrique. Toute impulsion de taille supérieure à celle que peut provoquer la conversion photoélectrique du rayonnement de source est donc à coup sûr indésirable et peut être éliminée.

D'autre part, si le détecteur est un cristal d'assez grandes dimensions pour que la quasi-totalité de l'énergie des photons incidents y soit absorbée, on aura un spectre d'impulsions groupé aux environs de la raie photoélectrique, avec une intensité assez faible dans les basses énergies. Dans ce cas, il peut être intéressant de centrer la raie principale du spectre dans une fenêtre d'analyse.

De toutes manières, nous avons vu qu'il était toujours intéressant de limiter le spectre d'analyse vers le haut. A défaut d'autres considérations, le seuil de sensibilité de l'appareillage se limitera vers le bas. Nous sommes donc conduit à l'utilisation d'une fenêtre d'analyse spectrométrique, suffisamment large pour englober tout le spectre utile de source.

6. 6. *Les paramètres de mesure — Conclusion*

Des différents paramètres que nous avons examinés, seul le blindage a une action favorable, aussi bien sur η_S que sur η_B. Il en résulte que seules des raisons financières, d'encombrement et de difficulté de manipulation limitent la quantité de blindage à disposer autour d'une source.

Les autres paramètres ont une action contradictoire, en ce sens que toute augmentation de η_s entraîne une augmentation de η_B, et vice-versa, de telle sorte que le meilleur compromis n'est pas évident. C'est la formule (5) qui doit guider notre choix.

Comme on l'a vu au paragraphe 6.1, $\frac{1}{R_S}$ est le terme prépondérant pour les activités importantes par rapport au bruit de fond, tandis que $\frac{1}{r}$ l'emporte pour les faibles activités.

Le maximum de R_S ne correspondant pas nécessairement au maximum de r, les paramètres de mesures idéaux dépendent de la valeur de $\frac{R_S}{R_B}$. Pratiquement, on choisit les paramètres idéaux pour les faibles rapports $\frac{R_S}{R_B}$, puisque c'est dans ce cas que les mesures peuvent atteindre une longueur gênante. L'objectif à se fixer sera donc de donner sa valeur maximale à r. Ceci ne pourra d'ailleurs être obtenu que pour une valeur satisfaisante de R_S, puisqu'il intervient au carré dans r.

La figure 2 donne un exemple de détermination de la valeur optima de r, en fonction de la T.H.T. appliquée au détecteur d'une installation donnée.

7. — Comparaison de deux installations de mesure

De deux installations de mesure, la meilleure sera celle qui permet de faire une mesure à précision déterminée dans le temps le plus court.

Si nous nous intéressons aux faibles activités, la formule (5) devient :

$$t = \frac{K^2}{e^2 r} \quad (6)$$

et on voit que le temps de mesure est inversément proportionnel à r, qui constitue véritablement un coefficient de qualité de l'installation.

Si nous comparons deux installations, le rapport $\frac{r_1}{r_2}$ nous montrera dans quel rapport l'installation n° 1 est supérieure à l'installation n° 2.

Introduisant dans ce rapport les notations du paragraphe 6. 1, on peut écrire :

$$\frac{r_1}{r_2} = \frac{\eta_{s1}^2}{\eta_{B1}} \frac{R'_s}{R'_B} \cdot \frac{\eta_{B2}}{\eta_{S2}^2} \frac{R'_B}{R'^2_S}$$

$$= \frac{\eta_{S1}^2}{\eta_{B1}} \frac{\eta_{B2}}{\eta_{S2}^2}$$

Il est intéressant de remarquer que, pour les faibles activités, la formule (4) se traduit à :

$$e = K\sqrt{\frac{1}{rt}}$$

ou encore $$e = \frac{K}{\sqrt{t}}\,\frac{\sqrt{RB}}{R_S}$$

Ceci met en évidence le fait que R_S participe directement à l'erreur, tandis que R_B n'y intervient que par ses fluctuations.

Résumé

Après avoir mis en évidence les causes du bruit de fond en mesure nucléaires, on montre qu'il est possible d'obtenir un bruit de fond constant sur d'assez longues périodes. Une détermination unique et précise peut donc être faite et rester valable pour une série de mesures.

Appliquant alors des considérations de statistique au problème de la mesure, on en déduit le temps minimum de comptage nécessaire pour obtenir une précision donnée dans des conditions définies. Ce calcul permet de mettre en évidence un facteur de qualité de l'installation.

Quelques considérations sur les possibilités de diminution du bruit de fond terminent cet exposé.

The measurement of low radioactivity

Summary

After having outlined the causes of the back-ground noise in nuclear measurements, it is shown that it is possible to obtain a constant back-ground-noise over relatively long periods of time. A single and precise determination can thus be made and remain valid for a series of measurements.

Applying statistical considerations to the problem of measurement, the minimum counting time for obtaining a given accuracy in present conditions is deduced. This calculation shows the importance of a factor quality of the installation.

Finally some considerations will be put forward on the possibility of reducing the background noise.

Messung schwacher Strahlungsaktivitäten

ZUSAMMENFASSUNG

Nach Darlegung der Ursachen des Nulleffektes bei Kernmessungen wird gezeigt, dass es möglich ist, einen konstanten Nulleffekt über eine längere Periode zu erhalten. Eine einzige und genaue Bestimmung kann also vorgenommen werden, und gilt dann für eine Reihe von Messungen.

Nach Anwendung statistischer Überlegungen beim Messungsproblem ist sodann die minimale Zeitdauer der notwendigen Zählung abgeleitet worden, um eine für definierte Bedingungen gegebene Genauigkeit zu erhalten. Diese Berechnung erlaubt die Feststellung eines Qualitätsfaktors der Versuchsordnung.

Einige Betrachtungen über die Möglichkeiten der Verringerung des Nulleeffektes schliessen den Bericht ab.

COLLOQUE SUR LES PROBLÈMES DE L'AMÉLIORATION DU FRAISIER

ORGANISÉ EN COLLABORATION PAR LA SECTION « PLANTES HORTICOLES » (ARBORICULTURE-PETITS FRUITS) D'EUCARPIA (ASSOCIATION EUROPÉENNE POUR L'AMÉLIORATION DES PLANTES) ET LA STATION DE RECHERCHES DE L'ÉTAT POUR (L'AMÉLIORATION DES PLANTES FRUITIÈRES ET MARAICHÈRES A GRAND-MANIL (GEMBLOUX)

Gembloux, 1 et 2 août 1960

SECRÉTAIRE DU COMITÉ ORGANISATEUR :

Chef de Travaux R. LINDEN

Station des plantes fruitières, Gembloux

The Physiology of Flower Formation and vegetative Growth in the Strawberry

by Dr. C. G. Guttridge

Plant Physiologist, Scottish Horticultural Research Institute, Mylnefield, Invergowrie, Dundee (Royaume-Uni)

It is well known that photoperiod regulates the growth habit of the strawberry. The total photoperiodic response can be separated into several measurable components. Among these components the following are easily recognised — leaf size, petiole length, fruit-truss initiation, truss height, runner production, and some aspects of root growth.

In recent papers I have suggested that all these responses are regulated in the non-perpetual strawberry by the level of a single hormone which is produced in the leaves. This hormone appears to act on growing tissue as a promoter of vegetative development including runner formation and as an inhibitor of fruit-truss induction. Trusses are supposedly initiated when the hormone at the growing points falls to a non-inhibitory concentration. It is difficult to disprove the possibility that there may be several hormones involved, one or more of which could be a specific flower promoter, or that the effect on fruit truss induction is indirect, but in the present state of knowledge the single hormone hypothesis offers a satisfactory explanation of the facts.

The original evidence (1) for this hypothesis came from a study of

Table 1

	Daughter plants in short daylengths attacked to parent plants in :		Sig. Diff.
	Short daylengths	Long daylengths	
Mean Petiole length (cm.)	7,6	15,6	1,8
Mean Leaf Size ($cm.^2$)	95,9	136,5	17,9
No. of runners per plant	0	1,5	n/s
Mean No. of leaves to the first fruit truss	1,8	4,2	1,5

the behaviour of strawberry runner plants growing as donor/receptor pairs with the stolon acting as a bridge. In Table 1 the results of one such experiment with Redgauntlet show that with parent plants in long daylengths the vegetative development of attached daughter plants is much promoted and truss induction delayed in comparison with daughter plants attached to parents in short daylengths. It is apparent that a vegetative stimulus has passed along the runner from the parent in long daylengths to the daughter in short.

This stimulus caused increases in leaf size, petiole length and number of runners and a delay in fruit truss initiation. It is clearly possible that one hormone is alone responsible, but if so then we would expect to find that all the various components of the total response always change together with changes in daylength. A change in any one component of the growth response should always be accompanied by corresponding changes in all others. This seems to be true, as the following three more examples suggest.

In Table 2 are presented the results of an experiment conducted in growth cabinets comparing 10, 12, 14 and 16 hour daylengths at an intensity of illumination of about 10.000 lux throughout the whole photoperiod. With increasing daylength increases in petiole length, length of fruit truss and numbers of runners were obtained with a corresponding decrease in numbers of fruit trusses.

TABLE 2

Effect of Daylength on Strawberry (Redgauntlet)

	Daylength			
	10	12	14	16
Mean Petiole length (cm.)	12,2	22,5	30,2	31,9
Mean Length of trusses (cm.)	18,8	23,3	27,2	29,6
N° of runners per plant	0	0,7	3,2	6,9
N° of trusses per plant	1,9	1,9	1,4	1,0

Borthwick and Parker (2) have published some results which illustrate this point very clearly. Petiole length, leaf size and runner production all increased with increasing daylength, while at the same time the number of fruit trusses decreased. The results were obtained using illumination with tungsten filament lamps to extend a basic daylength of 11 hours outdoors.

Darrow and Waldo's early paper (6) can be cited as supporting this viewpoint in the main, especially when those varieties specially

adapted to short day are excluded. In fact Darrow and Waldo emphasised small differences between varieties while it is my desire to draw attention to the surprising measure of similarity.

Apparently anomalous results can usually be attributed to the action of an overriding factor such as low light intensity, or sometimes just to the non-attainment of threshold levels for runnering and flowering responses.

A number of factors of the environment in addition to daylength affect the growth habit of the strawberry. The interesting thing is that they appear to induce responses similar to the daylength response. Moreover, the vegetative characters are aligned together and truss initiation is again inhibited by changes which promote vegetative development. Temperature is an exemple although here the data is less extensive, probably because the formative effect of temperature is a more difficult subject to study than daylength. Nevertheless the data in Tables 3 and 4 show that in both long and short daylengths, corresponding increases in petiole length and runner production and a decrease in fruit truss initiation (in Table 3 only) occurs with increase in temperature. Threshold levels were apparently not reached for changes in fruit truss induction in the experiment reported in Table 4 but this is not surprising for a 10 hr. daylength.

TABLE 3

Effect of Temperature on the Strawberry in LD (10 + 5 hrs)

	55° F (12,8° C)	65° F (18,3° C)
Mean Petiole length (cm.)	16,4	24,5
No. of runners per plant	0	2,9
No. of trusses per plant	0,93	0

TABLE 4

Effect of Temperature on the Strawberry in SD (10 hrs)

	55°F (12.8°C)	65°F (18.3°C)
Mean Petiole length (cm.)	9,1	12,8
No. of runners per plant	0,13	0,53
No. of trusses per plant	1,0	1,0

WENT (3) has published, under copyright, some data on temperature effect in the strawberry, which are in general agreement with these. His data, however, suggests that temperature may affect the flowering

response in Marshall strawberry differently above and below 17°C. Went also observed a lack of proportionality between the flowering and runnering responses which led him to conclude that they are independent processes. They are, of course, quite different processes but lack of proportionality in response does not imply complete independence. Other published data is in better agreement showing increasing runner production (SMEETS (4)) and decreasing flowering (HARTMANN (5)) with increasing temperature.

The responses to winter chilling show the same corresponding response of vegetative characters with the same inverse flowering response. Tables 5 and 6 show that chilling results in increased petiole length, leaf product (length × breadth) and runner formation, and, with one small anomaly a decrease in truss induction. These responses occurred whether the experiment was conducted in either short daylengths (10 hr.) or in long daylengths (composed of either 17 hr. of full light or 10 hr. full light + 8 hr. supplementary light of low intensity).

TABLE 5

Effect of Winter Chilling on Strawberry

	SD (10 hr.)		LD (10+8 hr.)	
	Dormant	Chilled	Dormant	Chilled
Mean Petiole length (cm.)	3,2	4,8	9,2	13,2
No. of runners per plants	0	3,0	2,3	4,6
No. of trusses per plant	2,4	1,3	0,13	0

TABLE 6

Effect of Winter Chilling on Strawberry

	SD (10 hr.)			LD (17 hr.)		
	Dormant	Part Chilled	Chilled	Dormant	Part Chilled	Chilled
Mean Petiole length (cm.)	7,4	9,0	15,5	10,1	12,2	15,8
Mean Leaf Product ($cm.^2$)	117	132	230	232	189	289
No. of runners per plant	0	0	2,4	2,	3,	4,
No. of trusses per plant	1,6	2,1	1,4	0,6	0,5	0

Gibberellic acid may be mentioned here, for the increased vegetative development, characterised by increased petiole length, leaf size and increased runner production, resulting from application of gibberellic acid is also accompanied by inhibition of flower initiation.

To these experimental data may be added the experience of gardeners and experiments alike, that both dry conditions and starvation, especially in pots that are too small, check plant height, reduce leaf size and runner production and promote fruit truss induction.

Clearly there is a parallel between response to daylength and response to the other environmental factors. This does not imply that these other factors also operate by regulating the supply of the postulated hormone. Indeed it seems likely that they may be more concerned with its utilization than with its production.

My main purpose in presenting this data is to illustrate the antagonism that exists between vegetative development and fruit truss initiation, and how widely based it is. It seems difficult to affect the vigour of vegetative development without affecting truss induction, potentially if not actually.

In turning to discuss the effect of this antagonism in the field I shall use the term vegetative vigour as it seems more appropriate than vegetative development. The two terms as used here are I think synomonous, for the grower assesses vigour and the physiologist assesses vegetative development by observing the same criteria, plant height, (petiole length), leaf size and runner production.

Vigorous vegetative growth with its associated runner production on the one hand and flower formation on the other both have their survival value in an evolutionary sense and so will share the energy resources of the plant. The summer-fruiting strawberry used daylength to obtain a balance between reproduction by seed and multiplication by runners. Long summer days favour vegetative multiplication by runners, and the short day-lengths of autumn, permit, or induce, the formation of flower trusses. The cessation of runner formation in short days provides sites for the initiation of branch crowns. Surplus carbohydrates made available by the suppression of vegetative growth in autumn are stored mainly in the roots. Chilling in winter inclines the plant towards vegetative growth so that strong vegetative growth with runner production occurs in spring and is accompanied by the inhibition of further fruit truss induction. The development and growth of trusses and their fruits in spring and summer is probably largely a vegetative response, favoured by chilling and long daylengths ; there is a need for more data here.

The antagonism between vegetative vigour and fruit truss induction is at the heart of the problem of fruit yield. It is self evident that a good crop must depend firstly on the formation of adequate numbers of fruit trusses. Having achieved this, maximum vigour is required to realize the potential crop in these fruit trusses. Full development of

fruit trusses and maximum fruit swelling must need the support of a vigourous development of leaves for photosynthesis. Unfortunately the vigour favourable to these ends can very easily lead to a deficiency of fruit truss formation.

The best yielding varieties are probably delicately balanced in the respect, and necessarily so for the biggest yields cannot be obtained without maximum vegetative vigour to support them.

There is no doubt that excessive vegetative vigour does occur in commercial strawberry growing in Britain and is a cause of low yields. It is very interesting to see that ridding certain varieties of virus infection by heat therapy has resulted in increased vigour but lower yields of fruit. Rogers and Fromow (7) have found this to be due to reduced or delayed fruit truss formation associated with the increased vigour of growth.

In the plantations at Mylnefield, Dundee, low yields have been associated with insufficient numbers of fruit trusses (7). In fact, in two varieties yields were closely correlated with truss numbers over several years.

This same antagonism is also at the centre of some of the manurial problems of strawberry. Highly fertile soil, richly manured, favours the vegetative development of the plant, so that in these soils excessive vigour and an accompanying deficiency in truss numbers is most likely to be limiting the yield, anyway in healthy, high-yielding varieties. In poor soils, insufficiently manured, the yield of these same varieties may be limited, not by small numbers of trusses, but by insufficient vigour to support a large crop of fruit.

Theoretically there must be a best level of soil fertility for any single variety growing in a given climatic environment. But with year to year climatic differences the nearer vegetative vigour is pushed up to the limit by increased soil fertility or the growing of a more vigourous variety the nearer is brought the possibility of inadequate truss formation in some years. With healthy, virus free stocks and new high yielding varieties this danger of over manuring is, I suspect, becoming a serious reality.

The breeders' problem with summer fruiting, non-perpetual varieties, is to obtain maximum vegetative vigour with minimum fruit truss inhibition. The answer here is possibly to breed for a sharpened photoperiodic sensitivity, so that long days give greater support to vigour, while short days give less support to vigour and permit more truss induction.

The growers problem has a short cut solution where the problem is one of excessive vigour. The solution is to defoliate the plants by

cutting-off and removing all the leaves soon after fruit harvest. In Scotland the best time to do this is in the first fortnight in August which is more or less immediately after the fruit harvest. At Mylnefield, by this simple procedure truss numbers have been increased very substantially and total yields of fruit (sound + damaged) increased by between 3 oz/plant (0,08 Kg/plant) and 25 oz/plant (0,71 Kg/plant) to totals of about 2 lb./plant (0,9 Kg/plant). These increases in yield were entirely due to increased numbers of trusses (7), resulting one must suppose, from the check to vigour following defoliation. The check to vigour in this instance may be due to the removal of the source of vegetative hormone, when the leaves are cut off (8).

The fact that defoliation is an old gardening custom suggests that the problem of combining adequate fruit-truss formation with adequate vigour to carry a full crop has been with strawberry growers for a long time.

BIBLIOGRAPHY

(1) Guttridge, C. G. (1959). Evidence for a flower inhibitor and vegetative growth promoter in the strawberry. *Ann. Bot.*, **23**, p. 351.

(2) Borthwick, H. A., and Parker, M. V. (1953). Light in relation to flowering and vegetative development. *13th Int. hort. Congr. Lond.* 1952, p. 801.

(3) Went, F. W. (1957). The experimental control of plant growth. *Chronica Botanica Co. Waltham, U. S.* Ch. 9.

(4) Smeets, L. (1956). Influence of the temperature on runner production in five strawberry varieties. *Euphytica*, **5**, p. 13.

(5) Hartmann, H. T. (1947). The influence of temperature on the photoperiodic response of several strawberry varieties grown under controlled environment conditions. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **50**, p. 243.

(6) Darrow, G. M. and Waldo, G. F. (1934). Responses of strawberry varieties and species to duration of the daily light period. U.S.D.A. *Tech. Bull.* 453.

(7) Rogers, W. S. and Fromow, M. G. (1958). The field performance of heats treated strawberry clones. *E. Malling Ann. Rept.* 1957, p. 50.

(8) Thompson, P. A. and Guttridge, C. H. (1960). Role of leaves as inhibitor of flower induction in strawberry. *Ann. Bot.* (in press).

(9) Guttridge, C. G., Anderson, M. M., Thompson, P. A. and Wood, C. A. (1960). Post-harvest defoliation of strawberry plantations. Submitted to *J. hort. Sci.*

Summary

Our experimental work at Mylnefield, Dundee, strongly suggests that vegetative growth and flower formation in the strawberry are regulated by a vegetative growth promoting hormone, which also inhibits the formation of flower trusses when present in sufficient quantity. It is intended to review the evidence for this and to discuss in these terms the growth of the plant in relation to climate, variety, cultural treatment and fruit yield.

Physiologie de la formation des fleurs et du développement végétatif chez le Fraisier

Résumé

Notre travail expérimental à Mylnefield, Dundee, laisse fortement supposer que le développement végétatif et la formation des fleurs chez le fraisier sont sous la dépendance d'une hormone de croissance.

Cette hormone inhibe la formation des hampes florales lorsqu'elle est présente en quantité suffisante. Nous nous proposons dans notre communication de démontrer le rôle de cette hormone et d'envisager en conséquence la croissance de la plante en relation avec le climat, la variété, les techniques culturales et la récolte.

Physiologie der Blutenbildung und der vegetativen Entwicklung bei der Erdbeere

Zusammenfassung

Unsere Versuchsarbeit in Mylnefield, Dundee, lässt stark vermuten, dass die vegetative Entwicklung und die Blütenbildung bei der Erdbeere unter dem Einfluss eines Wachstumshormons steht.

Dieses Hormon hemmt die Bildung von Blütenständen, wenn es in genügender Menge vorhanden ist. Wir wollen in unserer Abhandlung die Rolle dieses Hormons zeigen und in der Folge das Wachstum der Pflanze in Beziehung zum Klima, der Art, der Anbautechnik und der Ernte.

Some results of recent investigations of the Physiologie of the Strawberry

by Ir Smeets
Instituut voor de Veredeling van Tuinbouwgewassen
Wageningen (Pays-Bas)

The Author having failed to hand over a copy of his paper, it has not been possible to publish it in this volume.

Summary

The investigations to be discussed, carried out in the Phytotron of the Institute of Horticultural Plant Breeding at Wageningen, concern the influence of temperature during the stratification period on seed germination and the effect of the day and night temperature on the firmness of the fruit.

Quelques résultats de recherches récentes sur la physiologie du fraisier

Résumé

Les recherches à discuter, exécutées dans le phytotron de l'Institut de l'Amélioration de Plantes Horticoles à Wageningen, portent sur l'influence de la température lors de la période de stratification sur la germination de la semence et sur l'influence de la température diurne et nocturne sur la fermeté du fruit.

Einige Ergebnisse rezenter Untersuchungen über die Physiologie der Erdbeere

Zusammenfassung

Die zu besprechenden Untersuchungen, die im Phytotron des Instituts für gärtnerische Pflanzenzüchtung in Wageningen durchgeführt wurden, beziehen sich auf den Einfluss der Temperatur während der Stratifikationsperiode auf die Samenkeimung, und den Einfluss der Tages- und Nachttemperatur auf die Festigkeit der Früchte.

Photopériodisme et développement des fraisiers cultivés

par C. Sironval
Directeur du Laboratoire de Physiologie Végétale (IRSIA), Centre de Gorsem (Belgique)

Nous disposons actuellement pour la culture d'un grand nombre de variétés de fraisiers. Le Comité de Recherches du Fraisier (IRSIA), qui s'est donné pour tâche d'en rassembler les principales, possède dans ses champs de collections environ soixante variétés différentes. Leur caractères morphologiques et les caractéristiques de leur floraison sont actuellement décrits par l'Ingénieur R. Lemaître. Ces variétés sont toutes d'origine plus ou moins récente. Aucune d'entre elles n'était connue, il y a 100 ans, lorsque Léonce de Lambertye publia son traité sur « Le fraisier ». A fortiori, étaient-elles inconnues de Duchesne et des pionniers de la culture fraisière du 18e siècle. Pourtant, toutes dérivent des 8 ou 9 espèces botaniques de fraisiers européens et américains, par croisements divers et semis, selon la méthode qu'employa Duchesne lui-même lorsqu'il créa son fraisier de Versailles.

Il serait passionnant, mais sans doute fort difficile, d'écrire l'histoire des races et des croisements. L'assortiment qui en est résulté se divise en pratique en deux grands groupes : celui des fraisiers dont les fruits sont petits, et celui des fraisiers dont les fruits sont gros. C'est une division réelle et parfaitement acceptable, puisqu'outre la grosseur des fruits produits, les deux groupes se distinguent encore par plusieurs caractères. Les fraisiers « à petits fruits » se sèment. Ils ont en général un feuillage relativement peu vigoureux. Ils portent des fruits de mai à octobre sans discontinuer. Ils ne sont guère utilisés dans la production des fraises et servent plutôt à la décoration des jardins. Au contraire, les fraisiers à gros fruits se reproduisent par stolons ou par division du plant-mère. Ce sont les fraisiers de production par excellence. Beaucoup d'entre eux donnent leurs fruits à une époque *précise* de l'année, entre mai et juillet, chaque race se distinguant par sa plus ou moins grande hâtivité ou tardivité. Cependant, quelques races à gros fruits se caractérisent par une floraison et une fructification capable de se perpétuer durant l'été jusqu'en automne. C'est le groupe des fraisiers à gros fruits dits « remontants ».

Pour toutes les races actuellement disponibles, le sélectionneur a considéré avec attention les caractères de couleur, de grosseur, de goût et de dureté des fruits, ainsi que l'abondance de la récolte. Très souvent,

telle variété a été spécialement adaptée à tel climat, à tel terrain, celui où elle s'est constituée à partir du semis.

Ainsi, le choix des races est considérable, peut-être l'un des plus considérable qui soit dans le domaine de la culture fruitière.

Physiologiquement, la volonté des sélectionneurs d'obtenir des produits dont les caractères de floraison et de fructification soient bien déterminés a abouti à mettre à notre disposition divers types de fonctionnement. Chaque race se caractérise en fait par une réaction définie à l'égard des facteurs généraux du milieu. En particulier, leur développement paraît influencé presque spécifiquement par la durée des jours.

Van den Muyzenberg a déjà noté l'importance de la photopériode pour la floraison et la fructification des fraisiers (5). Pour notre part, nous avons étudié les effets de la durée des jours sur une vingtaine de races diverses. Chacune a révélé un comportement propre qui peut servir à la caractériser dans une certaine mesure.

*
* *

1. — Photopériodisme et fraisiers à petits fruits

Il faut distinguer deux cas : celui des fraisiers à petits fruits à stolons, et celui des fraisiers à petits fruits sans stolons.

A. Les races à stolons — Les races à stolons (par exemple le « fraisier des quatre saisons à fruits rouges », que nous avons eu l'occasion d'étudier longuement et qui provenait de la maison Gonthier de Huy) exigent généralement des jours longs pour réaliser un développement normal jusqu'à la fleur et au fruit. L'application des jours courts, de 8 h., est toujours néfaste (voir 2 et 3).

Ainsi, lorsqu'on donne des jours courts à partir de la germination, les plantules ne peuvent croître normalement et la mort ravage rapidement le semis. Plus tard, lorsque la plante a 5 ou 10 feuilles, les jours courts ralentissent le développement sans provoquer la mort. Le retard du développement peut être mesuré exactement en suivant l'évolution de la forme des feuilles successives (courbe b_1 ou b_2, fig. 1). Si les jours courts sont continuellement appliqués, le développement finit par s'arrêter. Le fraisier produit alors une série de feuilles constamment semblables, sans parvenir jamais à fleurir (ligne ondulée A de la fig. 1). Cependant, même en jours courts, la production des stolons est normale. Il en apparaît un à l'aisselle de chaque feuille à partir de la 10e (environ). Seule la mise à fleur et les événements morphologiques secondaires qui l'accompagnent ne se produisent pas (formation de

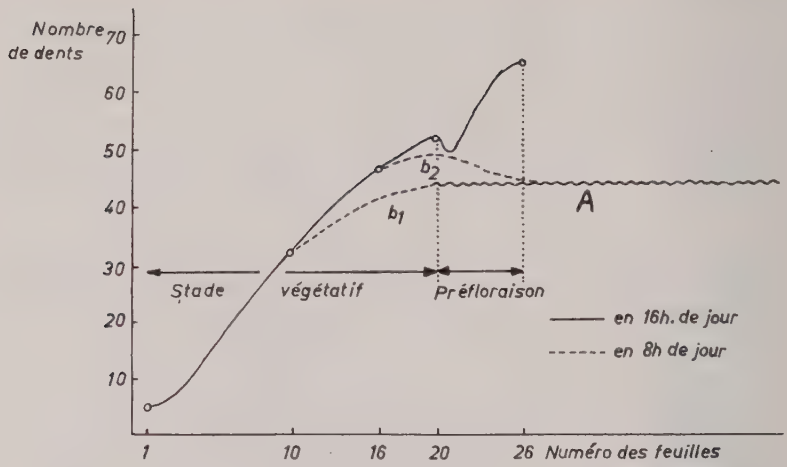


FIG. 1 — Retard, puis arrêt du développement mesuré par l'évolution de la forme des feuilles successives, lors de l'application de jours courts à des fraisiers des quatre-saisons à fruits rouges, race « Gonthier ». La courbe en trait plein correspond à l'évolution normale de la dentelure des feuilles en jours longs. En pointillée (b_1 et b_2), on a appliqué des jours courts à partir de la 10e et de la 16e feuille. Le développement est ralenti, puis il s'arrête : la plante forme alors constamment des feuilles de même forme sans jamais fleurir (dentelure inférieure à 50 dents ; niveau de la ligne ondulée A).

tiges secondaires dressées au lieu de stolons, notamment). Si les jours courts sont donnés à un fraisier qui a déjà fleuri antérieurement, la floraison se poursuit, mais la forme des hampes florales et le nombre de fleurs qu'elles produisent se trouvent modifiés. Les changements morphologiques observés sont complexes. Ils se ramènent en pratique à une réduction de la tendance de la hampe à produire des fleurs et à une augmentation de la tendance à faire des feuilles. Dans ce cas, les fleurs obtenues en 8 h. sont souvent morphologiquement anormales ; on rencontre par exemple des sépales géants (fig. 2). Cependant, la fructification a généralement lieu en jours courts d'une manière à peu près normale.

Le comportement des races à stolons à l'égard de la durée des jours correspond à la pratique culturale qui les concerne : on les sème chez nous en mai, en jours longs, et leur développement se fait entièrement dans les jours longs de l'été. Il est complètement achevé au début de l'automne.

B. LES RACES SANS STOLONS — Les races sans stolons à petits fruits réagissent un peu différemment des races à stolons. Il s'agit en général de clones relativement mal fixés, dont la mise à fleur naturelle en jours longs se produit très tôt au cours du développement. Tandis que les

Fig. 2 — Fleurs anormales, à sépales foliacés, qu'on obtient par la culture en jours courts de fraisiers des quatre-saisons — à petits fruits et à stolons — en fleurs en (a), vue de face ; en (b), de dos

races à stolons forment leurs premières fleurs aux environs de la 20e feuille (dont les limbes sont découpés par plus d'une cinquantaine de dents), les races sans stolons présentent leurs premières fleurs alors qu'elles ont fait une quinzaine de feuilles seulement, voire même moins de quinze feuilles (découpées par 30 à 40 dents ; voir Tableau 1). A ce caractère de précocité se rattache la propriété de faire pousser de

Tableau 1

Nombre de feuilles formées au moment de la première floraison de quelques fraisiers à petits fruits, et dentelure observée sur ces feuilles

N° d'ordre des plantes étudiées	Race sans stolons (Rügen)		Race à stolons (quatre-saisons à fruits rouges - Gonthier)	
	Nombre de feuilles formées	Dentelure observée	Nombre de feuilles formées	Dentelure observée
1	13	35	21	53
2	16	41	24	58
3	14	35	23	60
4	15	44	22	54
5	17	42	24	63
6	14	36	24	61

courts axes dressés en lieu et place de stolons, à partir de l'aisselle de la 10e-15e feuille, parfois beaucoup plus tôt (1).

Lorsqu'on cultive en jours courts des fraisiers à petits fruits sans stolons, des phénomènes analogues à ceux décrits plus haut pour les fraisiers à stolons se produisent. Si l'application des jours courts se fait au semis, la croissance des jeunes plantes devient difficile et la mort est fréquente. Plus tard, après la 5e-10e feuille, les jours courts retardent le développement. L'effet obtenu est cependant moins évident que chez les races stolonifères et la mise à fleurs n'est pas nécessairement empêchée. Au contraire, la floraison peut se produire en jours courts, même de 8 h, quoique d'une manière réduite et atténuée. Une fois les fraisiers en fleurs, le retour dans des jours longs accélère la floraison et augmente la vigueur des hampes florales.

On se trouve ici en présence de races qu'on pourrait qualifier d'indifférentes à la durée des jours quoiqu'elles restent préférentiellement de jours longs. Si on veut, leurs exigeances à l'égard de la durée des jours sont moins strictes que celles des races à stolons, mais elles sont du même ordre.

2. — Photopériodisme et fraisiers à gros fruits

Contrairement aux races de fraisiers à petits fruits, qui sont tous, au moins préférentiellement, de jours longs, la plupart des fraisiers à gros fruits sont mis à fleurs par des conditions de jours courts. Dès 1949, Van den Muyzenberg proposait de régler l'induction florale de la variété « Deutsch Evern » par des applications de jours courts (5). Lorsque l'induction florale est réalisée, la floraison elle-même et la fructification doivent se faire en présence d'un éclairage supplémentaire adéquat. Cependant, certaines races de fraisiers à gros fruifs ne suivent pas la règle générale. Ces races se classent en 2 catégories : il s'agit d'une part de quelques races hâtives non remontantes et, d'autre part, des races dites « remontantes ».

A. — Hâtivité et réaction photopériodique

On peut considérer qu'une race est hâtive lorsqu'elle commence à fleurir, dans nos régions, en mi-avril et lorsque ses fruits sont mûrs au

(1) Il convient de noter que, lorsqu'ils sont en fleurs, les fraisiers à petits fruits à stolons poussent aussi des axes courts dressés, mais ces axes ne se présentent qu'à certains nœuds et la propriété de faire des stolons persiste. Il est possible que chez les fraisiers sans stolons, la précocité et aussi l'abondance de la floraison, ait imposé la formation d'axes dressés comme caractère de la variété.

début juin. Une race tardive fleurit et présente des fruits mûrs environ 2 à 3 semaines plus tard. La différence est donc relativement faible.

Il entre au moins 2 facteurs dans la détermination de la hâtivité. Pour qu'une race soit hâtive, il faut 1) qu'elle fleurisse tôt ; et 2) que la période de croissance et de maturation du fruit soit la plus courte possible. Il est aisé de montrer que lorsque la floraison est hâtive au printemps, l'induction de la floraison elle-même se produit tôt au cours de l'année précédente, dans des conditions de jours longs.

La simple observation des fraisiers fournit deux arguments en faveur de cette thèse. Un premier argument ressort de l'examen de l'état des ébauches florales au début de l'automne, en septembre par exemple. On les trouvera bien formées chez une race hâtive, comme la « Surprise des Halles » ; mais encore inexistantes chez une race tardive, comme la « Pillnitz ». C'est que, chez la race hâtive, l'induction a eu lieu très tôt dans le courant de l'été.

Un second argument est à trouver dans les observations courantes de la pratique relative à la seconde floraison des fraisiers, en septembre-octobre par temps doux. Cette seconde floraison touche essentiellement les variétés hâtives ; elle touche beaucoup moins les variétés tardives. C'est que les premières ont, dès septembre, des ébauches florales bien formées, prêtes à croître et à s'épanouir. Cette propriété est d'ailleurs fort utile pour le forçage d'hiver qui sera bien plus facile à obtenir chez les variétés hâtives. Il est parfaitement possible, *sans aucun traitement photopériodique particulier*, de forcer la croissance des hampes florales et la fructification de la plupart des variétés hâtives courantes par un chauffage et un éclairage adéquat appliqué à partir du 15 octobre (fig. 3). Dès avant cette date, l'induction florale a eu lieu en juillet-août et les ébauches florales sont prêtes (1).

Ces deux arguments sont clairs : il ne fait pas de doute que si les ébauches florales des variétés hâtives sont entièrement constituées au début de l'automne, c'est que des jours relativement longs permettent l'induction florale.

La démonstration expérimentale confirme cette conclusion d'une manière décisive. Nous l'avons réalisé d'une part en partant de plantes adultes, et, d'autre part, en partant de semis de graines obtenues par autofécondation et que l'Ingénieur Lemaitre a bien voulu mettre à notre disposition.

a) Nous avons transféré des plantes adultes de diverses variétés cultivées en pots en plein air, dans des jours artificiellement allongés jusqu'à 16 h., et à une température de 20°C. Le transfert a eu lieu début septembre. Dans ces conditions nouvelles de jours maintenus longs, les variétés hâtives comme la « Surprise des Halles » ou la

« Triomphe de Tihange » fleurissent vers novembre, alors que les variétés tardives n'arrivent pas à fleurir et périssent généralement. Il faut conclure que la floraison des premières peut être induite en jours longs, mais non celles des secondes.

b) Les essais faits à partir de semis aboutissent à la même conclusion.

Le semis a l'avantage de donner des plantules sûrement non sexuées au départ, ce qui permet de reconnaître facilement les conditions induisant la première floraison. Évidemment, on peut objecter que le semis fournit une descendance hétérogène. Notre expérience montre que la descendance des graines résultant d'une auto-fécondation est moins hétérogène qu'on pourrait le croire. Ceci s'observe bien lorsqu'on examine les fruits de la descendance. Pour la grosse majorité, les fruits obtenus à partir des semis sont semblables à ceux des parents. Ainsi, de la « Surprise des Halles », nous avons obtenu, par semis, des plantes donnant dans leur très grosse majorité des fruits assez petits, régulière-

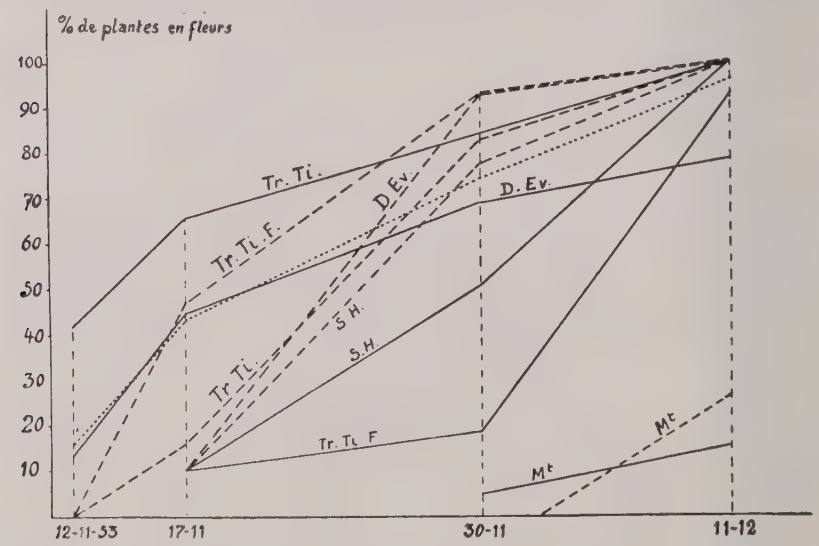


Fig 3. — Cinétique de la floraison de quelques variétés hâtives en forçage. Il n'y a eu aucun traitement photopériodique spécial ; on a simplement chauffé et éclairé durant 16 h. à partir du 15 octobre 1953.

Tr. Ti. = Triomphe de Tihange
Tr. Ti. F. = Triomphe de Tihange fausse
D. Ev. = Deutsch Evern
S. H. = Suprise des Halles
Mt. = Madame Moutot

Bien remarquer que la variété le moyenne saison « Madame Moutot » a fleuri difficilement, tandis que les variétés hâtives l'ont fait sans aucune réticence (*R. Lemaître et C. Sironval*, 1).

ment ronds et terminés en pointe ; de la « Triomphe de Tihange », des fruits arrondis et côtelés ; de la « Pillnitz », de gros fruits souvent fortement allongés. En particulier, les propriétés de hâtivité et de tardivité se retrouvent très bien dans la descendance par semis. La descendance « Pillnitz » est tardive ; celle de la « Surprise des Halles » est hâtive, etc...

Dans quelles conditions de durée de jours de tels semis fleurissent-ils ?

Considérons la descendance de trois variétés : une variété hâtive, la « Surprise des Halles » ; une variété de moyenne saison, la « Madame Moutot » ; et une variété tardive, la « Pillnitz ». Le semis a lieu le 2 février. Lorsqu'elles ont environ cinq feuilles (le 15 avril), les lots de chaque variété sont divisés en 2 séries : l'une continue à subir des jours longs, de 16 h. ; l'autre reçoit des jours courts, de 8 h. La croissance se poursuit dans ces conditions (après repiquages adéquats !) jusqu'à la fin du mois d'octobre. A ce moment, la floraison a débuté. Chez les variétés « Mme Moutot » et « Pillnitz » on la trouve en jours courts, et non en jours longs ; mais chez la variété hâtive « Surprise des Halles », on la trouve au contraire en jours longs et non en jours courts (Tableau 2).

Tableau 2

Effet de la durée des jours sur la mise à fleurs de 3 variétés de fraisiers à gros fruits

(Résultats du 30 octobre ; semis du 2 février).

Nom de la variété expérimentée	Nombre de fraisiers en fleurs (en %)		Nombre moyen de hampes florales par fraisier en fleurs	
	en jours courts	en jours longs	en jours courts	en jours longs
Surprise des Halles	0	7	0	1
Mme Moutot	67	0	1,3	0
Pillnitz	24	0	1	0

Il apparaît ainsi que la hâtivité correspond bien à une induction florale possible en jours longs, et qui se produit par conséquent en juillet-août, tandis que la tardivité correspond à une induction florale demandant des jours courts, — qui se fait dès lors au début de l'automne, voire en novembre-décembre.

B. — La réaction photopériodique des fraisiers à gros fruits remontants

Nous prendrons, comme exemple, la variété « Sans Rivale ». La floraison et la fructification de cette variété, bien qu'elle fournisse de

gros fruits, « remonte » à travers les saisons, du printemps à l'automne. Morphologiquement, cela correspond à un mode de croissance spécial qui permet la propagation par division de la souche principale. Cependant, la variété donne des stolons à partir de la fin de la première floraison, en juin-juillet, et on la reproduit aussi par ces stolons.

Le simple fait de l'étalement de la floraison durant l'été fait penser à une race de jours longs, écologiquement parente des races hâtives à gros fruits. De fait, le semis donne une descendance qui, comme chez les races hâtives, demande des jours longs pour son développement normal jusqu'à la première floraison. Une fois en fleurs, le fraisier « Sans Rivale » peut fleurir en jours courts, mais nettement moins qu'en jours longs. C'est ce que montre l'expérience suivante :

Si, au début de la saison, en mai, on divise un lot de plantes adultes (depuis longtemps sexuées) en deux séries, — l'une maintenue en jours longs, l'autre en jours courts —, on obtient d'abord en juin la floraison et la fructification des hampes florales élaborées durant l'année précédente. Elle se produit de la même manière dans les deux séries. Ensuite, la floraison reprend, surtout à partir de juillet, mais en s'atténuant en jours courts. Le tableau 3 montre, par exemple, qu'en mi-juillet, 61 % des plantes en 16 h. de jour ont déjà refleuri, contre 36 % des plantes en 8 h. de jour. Le nombre de fleurs qu'on trouve à ce moment sur les plantes en fleurs en 16 h. est à peu près deux fois plus élevé que celui qu'on trouve sur les plantes en fleurs en 8 h.

Ceci montre sans équivoque que, chez la race remontante « Sans Rivale », la mise à fleurs demande des jours longs pour se produire normalement.

Tableau 3

Effet de la durée des jours sur la floraison du fraisier remontant « Sans Rivale »
(Résultats après 2 ½ mois de traitement photopériodique appliqué à partir de début mai, voir le texte).

	en 16 h. de jour	en 8 h. de jour
Nombre de plantes en fleurs (en %)	61	36
Nombre de hampes florales par plante en fleurs	1,4	1,0
Nombre de fleurs par plante en fleurs	5,9	2,9

*
* *

Ainsi, chaque groupe de variétés présente, à l'égard de la durée des jours, un comportement propre qui peut servir à le caractériser physio-

logiquement. On peut même tirer de ces données des arguments quant à la filiation des races.

On est par exemple conduit à penser que les races à gros fruits remontantes et les races à gros fruits hâtives pourraient être liées de l'une ou l'autre manière. Les deux groupes forment aisément des ébauches florales en jours longs. Chaque praticien sait d'ailleurs que les races hâtives ont tendance à fleurir une seconde fois dans l'année, c'est à dire à « remonter », comme le font les races remontantes vraies. En tout cas, le fossé physiologique paraît à première vue plus grand entre races hâtives et races tardives qu'entre races hâtives et races remontantes.

On pourrait parvenir à des vues du même genre en considérant que les races à petits fruits sont, elles aussi, de jours longs (d'une manière absolue ou préférentiellement). Rien n'interdit de penser que, physiologiquement du moins, les fraisiers à gros fruits hâtifs sont des parents relativement proches des fraisiers à petits fruits en général.

Dans l'état actuel de nos connaissances, de telles idées reposent sur des bases encore fragiles. Elles peuvent cependant être dès à présent retenues, en ce qu'elles sont susceptibles d'orienter en pratique le sélectionneur dans ses croisements. Dès lors, il nous paraîtrait utile de les préciser et de leur fournir une base plus solide, en approfondissant la description du comportement écologique des fraisiers cultivés sous ses multiples aspects.

BIBLIOGRAPHIE

(1) Lemaître, R. et Sironval, C. 1955. Nouvel essai de production de fraises en hiver dans les conditions de la pratique. *Bull. Hort.*, **10**, p. 9.

(2) Sironval, C. 1951. Recherches organographiques et physiologiques sur le développement du fraisier des quatre-saisons à fruits rouges. *Mém. Acad. Roy. Belg.*, **26**, fasc. 4, pp. 1-184.

(3) Sironval, C. 1957. La photopériode et la sexualisation du fraisier des quatre-saisons à fruits rouges (métabolisme chlorophyllien et hormone florigène). *Comptes-rendus Rech. IRSIA.*, **18**, pp. 1-229.

(4) Sironval, C. 1959. Action de la durée des jours sur la croissance des stolons chez les fraisiers à gros fruits. *Bull. Soc. Roy. Bot. Belg.*, **91**, pp. 245-249.

(5) Van den Muijzenberg, E. 1949. La lumière en relation avec la culture du fraisier. *Bull. Hort.*, **4**, pp. 283-286.

Résumé

Le développement des diverses races de Fraisiers cultivés est fortement influencé par la durée des jours. Nous avons étudié de ce point de vue une vingtaine de races diverses. Chacune a révélé un comportement propre qui peut servir à la caractériser physiologiquement.

En général, les fraisiers à petits fruits sont de jours longs lorsqu'il s'agit de races stolonifères. Cependant, certaines races non stolonifères sont indifférentes, bien que leur développement reste toujours plus rapide en jours longs.

Les fraisiers à gros fruits remontants sont, comme les fraisiers à petits fruits, des races de jours longs ou indifférentes.

Au contraire, les fraisiers à gros fruits non remontants sont en général de jours courts (12 h et moins de 12 h) en ce qui concerne leur mise à fleurs. Seules, certaines races hâtives font exception (la Surprise des Halles, par exemple). Ces races hâtives se rapprochent en somme des fraisiers à petits fruits.

Il semble possible de tirer de ces données des arguments écologiques et physiologiques quant à la filiation des races.

Photoperiodism and development of cultivated strawberry

Summary

The development of the various strains of cultivated strawberry is highly affected by the length of the days. From this point of view, some twenty different strains have been studied. Each one showed a particular comportment which can be used for its physiological description.

Generally, small fruit strains with runners are of the long-day type. However, certain strains, without runners, are indifferent, although their development always proves faster in long days.

Large fruit fall-bearing strains, like small fruit strains, are of the long-day or indifferent types.

On the contrary, large fruit standard varieties are generally of the short-day type (12 h. and less than 12 h) as for their blossoming time. Certain early strains only are exceptions (Surprise des Halles, for example). In fact, those early strains somehow behave like small fruit varieties.

It seems possible to draw from those informations, some ecological and physiological evidence with regard to the filiation of strains.

Photoperiodismus und Entwicklung der Kulturerdbeere

Zusammenfassung

Die Entwicklung der verschiedenen Erdbeer-Kultursorten wird erheblich von der Tageslänge beeinflusst. Von diesem Gesichtspunkt aus haben wir ca. 20 verschiedenene Sorten untersucht. Jede einzelne hat ein besonderes Verhalten gezeigt, wonach man sie physiologisch charakterisieren kann.

Im allgemeinen sind die rankenden kleinfruchtigen Sorten Langtagstypen. Dagegen bleiben bestimmte nicht rankende Sorten neutral, obgleich ihr Wachstum an langen Tagen schneller bleibt.

Die grossfruchtigen remontierenden Erdbeeren sind wie die kleinen Sorten Langtagstypen oder Tag-neutral.

Dagegen sind die nicht remontierenden Erdbeeren mit grossen Früchten im allgemeinen Kurztagspflanzen (12 Std. oder weniger), was ihren Blütenansatz angeht. Nur wenige frühe Sorten bilden eine Ausnahme (Surprise des Halles z.B.). Diese frühen Sorten verhalten sich im ganzen ähnlich wie die Erdbeeren mit kleinen Früchten.

Möglicherweise kann man aus diesen Gegebenheiten ökologische und physiologische Schlüsse für die Sortenverzweigung ziehen.

Grundsätzliche Gedanken zur Frage der Wahl der Kreuzungseltern für den langjährigen Zuchtaufbau

von Dr. Friedrich Gruber
Max-Planck Institut, Vogelsang-Köln (Allemagne occidentale)

Die Gartenerdbeere (× *Fragaria ananassa*) bietet, wie die ungeheure Sortenzahl und Formenmannigfaltigkeit beweist, eine kaum zu erschöpfende Quelle für die Züchtung. Die gleichen Phänomene, die die ständige Neukombination der verschiedensten Eigenschaften ermöglichen, bilden aber auch die Hindernisse auf dem Wege einer organisierten Zuchtplanung. Als Hauptsächlichste seien genannt : 1. Die hybridogene Natur der Gartenerdbeersorten und ihre damit verbundene Heterozygotie, 2. die hohe Ploidiestufe (Oktoploidie) und 3. die starke Abhängigkeit des Entwicklungsryhtmus, der wiederum die Ausprägung vieler wirtschaftlich wichtiger Merkmale bestimmt, von den klimatischen und photoperiodischen Bedingungen des Standortes. Die durch die Heterozygotie, Polyploidie und Inzuchtempfindlichkeit schon sehr erschwerte Erbanalyse für die Elternwahl erfährt durch ihren nur standortbedingten Wert also eine weitere Einschränkung. Andererseits zeigen die grossen Erfolge der amerikanischen Erdbeerzüchtung, wie sie vor allem Darrow und seinen Mitarbeitern zu verdanken sind, die Vorteile eines auf weite Sicht angelegten Zuchtprogrammes. Aber auch die neueren Zuchterfolge in den europäischen Ländern, denen meist Kreuzungen einheimischer Sorten mit solchen amerikanischer Herkunft zu Grunde liegen, weisen in die Richtung eines langjährigen Zuchtaufbaues. Wenn ich im Folgenden einige Gedanken hierzu zur Diskussion stelle, möchte ich mich in erster Linie auf zusammenfassende Darstellungen Bauers in der Neuauflage des Handbuches der Pflanzenzüchtung und einer weiteren, im Druck befindlichen Veröffentlichung beziehen, die sich auf ein umfangreiches Literaturstudium neben eigenen Beobachtungen gründen.

Zunächst darf ich einige grundsätzliche Erscheinungen der Wachstums- und Fruchtungsperiodik bei der Gartenerdbeere und ihren wilden oktoploiden Stammarten in Erinnerung bringen. Ihre Kenntnis ist eine unerlässliche Voraussetzung für die Beurteilung der Ausbildungsmöglichkeit wirtschaftlich bedeutsamer Werteigenschaften. Es besteht, wie das Sortenverhalten in Anbaugebieten verschiedener Breitengrade und verschiedener Ausprägung und Dauer der winterlichen Periode zeigt, eine starke Variation des Winterruhebedarfs. Damit ist die

wachstumsinaktive Phase gemeint, die zur Ingangsetzung des frühjahrlichen Wachstums mehr oder weniger notwendig ist. Bei den der Stammart *F. chiloensis* näherstehenden Sorten ist, wie bei den meisten Herkünften dieser Art selbst, dieser wachstumsinaktive Zustand verhältnismässig schwach entwickelt. Die Sorten dieser Gruppe eignen sich daher in erster Linie für Gebiete niederer Breitengrade mit milden Wintern. Dagegen zeigen *F. virgianiana* und mit ihre verwandte Wildarten wie z. B. *F. ovalis* sowie die ihnen nahestehenden Kultursorten eine stark entwickelte Ruhephase. Die Sorten dieser Gruppe sind Kurztagtypen, bei denen die Veranlagung der Infloreszenzen im Herbst erfolgt. Deren Entfaltung im Frühjahr ist erst nach Stillung des Kältebedarfs, d. h. nach einer ausgedehnten Winterruhe möglich. Die Früchte werden im Frühsommer während der vegetativen Wachstumsphase ausgebildet. Diese Sorten sind also streng einmal tragend. Die Kurztagsorten der niederen Breiten haben dagegen eine nur schwach entwickelte Ruheperiode und einen geringen Kältebedarf. Sie vermögen deshalb schon während der generativen Phase neue Infloreszenzen anzulegen und bei geeigneten Aussenbedingungen vom Spätherbst bis zum Frühjahr zu blühen und zu fruchten. Im Anbau in nördlichen Breiten verhalten sich diese Typen aber wie normale Einmaltragende, allerdings mit geringerer Ertragsfähigkeit und Winterhärte, in Anbaugebieten niederer Breiten mit mildem Klima werden sie zu Dauerblühern und -fruchtern modifiziert. Diesen beiden Gruppen von Kurztagtypen steht die dritte der echten immer- oder zweimaltragenden (everbearing, remontant) gegenüber. Sie sind tagneutral und veranlagen ihre Infloreszenzen auch während des Langtags bei höheren Temperaturen. Die Sorten dieser Gruppe haben nur für spezielle Anbau- und Marktverhältnisse oder für den Hausgarten Bedeutung.

In den Vereinigten Staaten wurden schon sehr frühzeitig in den klimatisch und geographisch mehr oder weniger unterschiedlichen Anbauzonen Zuchtstationen eingerichtet. In vier Jahrzehnten regionaler Züchtungsarbeit entstanden eine grosse Zahl an die betreffenden Gebiete bestangepasster, leistungsfähiger Sorten. Ferner kristallisierten sich bestimmte Genotypen heraus, die sich als Zuchteltern in Richtung gewisser Merkmale oder Merkmalskombinationen unter den klimatischen und photoperiodischen Bedingungen der jeweiligen Anbauzone als besonders erfolgreich erwiesen. Die vorliegende Tabelle (Tab. 1) soll Ihnen einen Überblick über die wichtigsten neueren amerikanischen Sorten und ihre Abstammung, nach Gebieten gegliedert, geben. Die Tabelle zeigt, dass im nördlichen und mittleren Osten sowie in der nordwestlichen Mitte der Vereinigten Staaten, wo genügende

TABELLE 1

Überblick über die neueren Erdbeersorten der U.S.A. und ihre Abstammung, nach geographischen Zonen geordnet

Sorte :	Eltern :	Besondere Werteigenschaften :
Nordosten (New England) :		
Orland		Winterhärte, Phytophthora-Resistenz, Frostungseignung
Monmouth	Aberdeen × Howard 17	
Maine 55	Howard 17 × Aberdeen	
Mittlerer Osten (Middle Atlantic) :		
Jerseybelle	NJ-953 × NJ-925	Frostungseignung
Stelemaster	Fairland × Md-US-683	Phytophthora-Resistenz
Empire	Dresden × Sparkle	Fruchtgr., Festfl., Frostresistenz
Eden	Dresden × Fairfax	Frostung, Konservier.
Erie	Sparkle × Howard 17	Etrag, Fruchtgrösse
Essex	Howard 17 × Deutsch Evern	Qualität, Frühreife
Dresden	Beacon × Howard 17	Ertrag, Zuchtelter
Südosten (South Atlantic) :		
Dixieland	Tennessee Shipper × Midland	Frostungseignung
Albritton	NC-1065 × NC-1053	Festfl., Qual., Ertrag
Redglow	Fairland × Tennessee Shipper	
Stelemaster	Fairland × Md-US-683	Phytophthora-Resistenz
Surecrop	Fairland × Md-US-1972	
Vermillion	Redstar × Pathfinder	
Pocahontas	Tennessee Shipper × Midland	Frostung, Ertrag
Earlidawn		
Nordwestl. Mitte (West North Central) :		
Red Rich	Fairfax × Wayzata	Frosthärte (—35°C)
Westen (Pacific) :		
(Zentrale Küstenregion :)		
Shasta (Cal. 403.8)	Cal. 67.5 × Cal. 177.21	Ertrag
Sierra (Cal. 537.5)	Nich Ohmer × Cal. 177.21	Verticillium-Resistenz
Lassen (Cal. 544.2)	Cal. 21.9 × Cal. 161.1	Salztoleranz, Ertrag
Donner (Cal. 579.4)	Cal. 145.52 × Cal. 222	
(Washington :)		
Puget Beauty	Sparkle × U.S.Oreg. 1765	Frostungseignung, Phytophthoraresistenz
(Oregon :)		
Siletz	U.S. Oreg. 2012 × U.S. Oreg. 1816)	
(Louisiana :)		
Headliner	Kreuzung zweier Zuchthlona	Frischmarkt, Konservierung
Stlana	Cal. 177.19 × Cal. 103.22	Res. geg. Rote Spinne, u. Mehltau

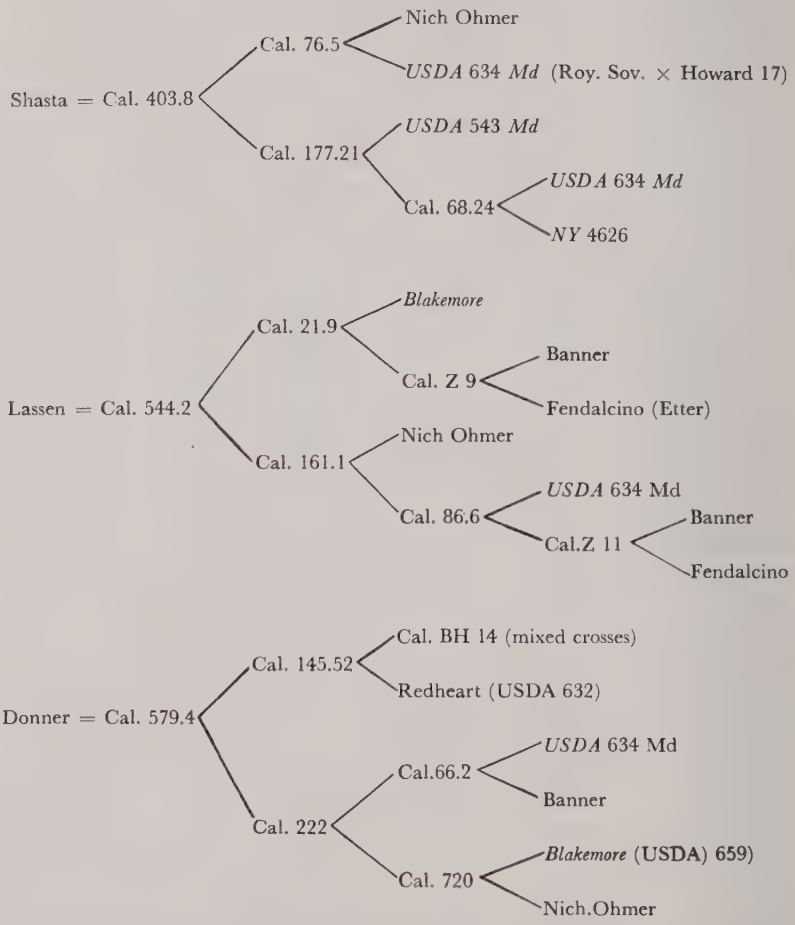
Winterhärte die Bewährungsgrundlage für eine Sorte bilden, die Abstammung der neueren Sorten sich überwiegend auf Howard 17 und Aberdeen und auf von diesen abgeleitete Sorten zurückführen lässt. So stammt z.B. die viel benutzte Sorte Fairfax aus der Kreuzung Royal Sovereign × Howard 17, Fairland und Sparkle aus der Kreuzung Aberdeen × Fairfax bezw. reziprok. Es scheinen sich hier die überaus breite Anpassungsfähigkeit (Adaptation) von Howard 17 mit der Phytophthoraresistenz von Aberdeen glücklich zu vereinigen. Auch bezüglich Winterfestigkeit, Fruchtqualität und Ertragsfähigkeit ergaben sich günstige Kombinationen. In den südöstlichen Staaten ist der Einfluss von Missionary, über ihre Tochtersorte Tennessee Shipper, unverkennbar. Doch ist auch Howard 17 wieder in der Abstammungsreihe der zu den Kreuzungen verwandten Sorten vorherrschend, so als der eine Elter von Midland und Pathfinder und als Grosselter bei Fairland und Redstar. Aberdeen ist der mütterliche Elter von Fairland, die Phytophthoraresistenz tritt wieder bei den Neuzüchtungen in Erscheinung.

In den westlichen Staaten ist vor allem in der pazifischen zentralen Küstenregion eine ausgesprochene Adaptationszüchtung an die dortigen Klima- und Bodenverhältnisse zu erkennen. Zur näheren Erläuterung der dabei angewandten Zuchtmethode seien die Abstammungstafeln für drei Sorten nach der Veröffentlichung von Baker und Voth gesondert wiedergegeben (Tab. 2). Die Grundlage bildet offensichtlich die Kombination gebietseigener und gebietsfremder Sorten und Zuchtklone, d.h. von genomatisch divergierenden Typen. Aus dem so gewonnenen breiten Adaptationsbereich erfolgt dann die Selektion auf die Anpassung an die ariden Bedingungen des Standorts (Salztoleranz).

Besonders erwähnen möchte ich nun noch die Zuchtmethoden, in denen zur Verstärkung der Adaptation auf die einheimischen Wildarten selbst zurückgegriffen wird. So erreichte schon Anfang dieses Jahrhunderts Etter in Kalifornien durch Einkreuzung der dort einheimischen Form von *F. chiloensis* eine erhöhte Trockenheits- und Hitzeresistenz in seinen Züchtungen. In neuerer Zeit benützte Powers die Erdbeere der Rocky Mountains, *F. ovalis*, in seiner Züchtungsarbeit zur Verstärkung der Winterfestigkeit. Dabei zeigte sich, wie dies auch für *F. virgianiana* und in besonderem Masse für *F. chiloensis* zutrifft, eine sehr starke Varianz bezüglich der meisten Merkmale innerhalb der Spezies selbst. Im vorliegenden Falle war daher als Erstes eine Vorselektion der für die Kreuzung zu benutzenden Speziestypen notwendig. Das weitere Zuchtprogramm bestand dann in der Kombination nicht-winterharter, grossfrüchtiger Kultursorten mit winterharten, kleinfrüchtigen Auslesen aus *F. ovalis*, unter Anwendung von Doppelkreuzungen. Auf weitere Einzelheiten aus dieser Züchtungsarbeit kann jedoch hier nicht näher eingegangen werden.

Tabelle 2

Stammtafeln kalifornischer Erdbeersorten (nach Baker und Voth)



Im Ganzen zeigt sich also als Ergebnis der amerikanischen Zuchtarbeit ein gebietsweises Nebeneinander bestimmter Adaptationsgruppen, bei deren Betrachtung sich immer wieder Eigenschaften der wilden Stammarten erkennen lassen. So weisen z.B. Starkwüchsigkeit, xerophile Blattmerkmale, mehr oder weniger ausgeprägte Virustoleranz, geringes Winterruhebedürfnis, Anpassung an maritime Gebiete und an niedere Breitengrade auf Abstammung von *F. chiloensis* hin. Dagegen machen mittlere Wuchskraft, starke Seitenkronenbildung mit vielen Blütenständen, weite Anpassungsfähigkeit an Lage und Boden, ausgedehnte Winterruhe, Spätfrostresistenz der Blüten und Winter-

festigkeit der Pflanze die nahe Verwandtschaft mit *F. virginiana* wahrscheinlich.

Bei den alten europäischen Sorten, die ja im wesentlichen auf die in Europa Ende des 18. Jahrhunderts erfolgte Spontankreuzung zwischen *F. chiloensis* in der von Frezier aus Chile eingeführten Form und der im 17. Jahrhundert aus Nordamerika importierten *F. virginiana* zurückgehen, ist die Variationsbreite der Merkmale ungeheuer gross. Je nach Selektionsrichtung nähern sie sich der einen oder der anderen Stammart oder stellen Typen mit z. T. luxurierenden Merkmalen wie z. B. der Fruchtgrösse dar. In neuerer Zeit wurde durch die Einkreuzung amerikanischer Sorten eine bedeutende Leistungssteigerung erzielt. Kronenberg wies 1952 auf die Tatsache hin, dass Kreuzungen zwischen europäischen und amerikanischen Sorten bessere Ergebnisse zeitigen, als solche zwischen europäischen Sorten allein, obwohl die amerikanischen Sorten selbst sich im Anbau in Europa wegen schlechter klimatischer Anpassung oft durchaus nicht bewähren. Die vorliegende Tabelle (Tab. 3) zeigt deutlich, dass gerade die am meisten beachteten neueren und auch einige ehemals führende ältere Sorten das Ergebnis von Kreuzungen zwischen europäischen und amerikanischen Herkünften sind. Die ertragsmässige Überlegenheit der neueren, auf diese Weise entstandenen Sorten gegenüber den alten rein europäischer Abstammung hat sich einwandfrei erwiesen. Ein planmässiger Zusammenhang zwischen den Züchtungen in den einzelnen europäischen Ländern ist aber bisher garnicht oder nur in den seltensten Fällen festzustellen. Es drängt sich jedoch angesichts der grossen Erfolge in den Vereinigten Staaten durch die Regionalzüchtung einerseits und die Kombination zwischen Typen verschiedener Gebiete andererseits die Frage auf, ob etwas Ähnliches nicht auch in Europa in Zusammenarbeit der Länderzüchtungen möglich wäre. Wahrscheinlich dürften die wirtschaftlichen Forderungen hinsichtlich der Zuchtziele zwischen den einzelnen europäischen Ländern verschiedenartiger sein als die zwischen den einzelnen Staaten der U.S.A. Die natürlichen Einflüsse des Standortes auf den Entwicklungsrhythmus der Erdbeerpflanze und damit auf die Merkmalsausprägung gelten aber hier wie dort. Es erscheint mir daher fruchtbar, sich Gedanken über eine Züchtungsorganisation zu machen, die auf der Grundlage europäischer Zusammenarbeit einen Zuchtaufbau auf weite Sicht gestattet. Infolge der schon eingangs erwähnten Schwierigkeiten für die Genanalyse ist für die Zuchtwertbestimmung der Selektionstest immer noch ein nicht zu umgehendes Hilfsmittel. Die Arbeit könnte vermutlich viel rationeller gestaltet werden, wenn in dem jeweiligen europäischen Zuchtgebiet die Auswahl der Elternsorten nicht nur nach bestimmten wirtschaft-

Tabelle 3

Europäische Erdbeersorten, die durch Einkreuzung mit amerikanischen Sorten entstanden sind

Sorte :	Eltern :	Besondere Werteigenschaften :
England und Schottland :		
Royal Sovereign	Laxton's Noble (*Sharpless* × Forman's Excelsior) × King of the Earliest	Ehemalige Hauptsorte, früh
Climax	TD8 (←Frith) × *Aberdeen*	Ehemalige Hauptsorte, Phytophthora-Resistenz
Talisman	*Amer. Sämling* × Climax	Konserv., Forstung, Phytophthora-Resistenz
Redgauntlet	*NJ-1051* × Climax	Fruchtqualität, leichte Pflückbarkeit
Holland :		
Oranda	Deutsch Evern × *Temple*	Unterglasanbau, leichte Pflückbarkeit
Glasa	*Howard 17* × Deutsch Evern	Frühe Treibsorte
Juspa	Jucunda × *Sparkle*	Kelchlöslichkeit, Ertrag
Deutschland :		
Oberschlesien	Jucunda × *Sharpless*	Ehemal. Hauptsorte
Sieger	Kaisers Säml. × Laxton's Noble (←*Sharpless*)	» »
Regina	*Amer. Sämling II Geneva* × Deutsch Evern	Frühreife, Frischmarkt, Treiberei
Machr. Frühernte		
Senga-Sorten	*Markee* × Eva Macherauch	Versand- u. Konservierung
Senga Sengana	Sieger × *Markee*	Ertrag, gleichm. Fruchtausbildung
Dänemark :		
Ydun	(Deutsch Evern × Späte von Leopoldshall) × *Culver*	Frühreife, Ertrag
Schweden :		
Indra	Southland × *Luna*	Ertrag
Julia	Sp. v. Leopoldshall × *Abundance*	

lichen Werteigenschaften, Resistenzverhalten u.s.w. erfolgte, sondern wenn auch die Adaptationseignung an das Zuchtgebiet berücksichtigt würde. Hierfür liefern die Abstammung und der Speziestypus schon wichtige Hinweise. Ist in einem Zuchtgebiet eine gewisse Summierung erwünschter Eigenschaften auf der Basis optimaler Anpassung an die klimatischen und photoperiodischen Standortbedingungen erreicht, wird die Kombination mit einem ähnlich züchterisch durchgearbeiteten, gebietsfremden und damit auch genomatisch anders konstituierten Typ eine sehr breite und aussichtsreiche Selektionsgrundlage unter Ausnutzung von Transgressionen ergeben. Selbstverständlich ist die erste Voraussetzung der Austausch und die mehrjährige Beobachtung von Sortimenten, einschliesslich der führenden amerikanischen Sorten, zumal durch die letzteren ja immer wieder die Verbindung zu den wilden oktoploiden Stammarten hergestellt wird. Ebenso wichtig ist jedoch eine einheitliche Zucht- und Prüfungsmethodik, worüber im Verlaufe dieser Tagung sicher noch eingehender gesprochen werden wird. Eine weitere Voraussetzung ist der Erfahrungs- und Ergebnisaustausch, wie er durch die Arbeit der Eucarpia ja bereits begonnen hat. Wo bei Ingangsetzung eines solchen langjährigen Zuchtaufbaus praktisch begonnen werden sollte, hoffe ich durch meine Ausführungen wenigstens angedeutet zu haben. Im Übrigen war der Zweck meines Referates, Gedanken zu diesem Thema zu bringen, Kritik oder Vorschläge darf ich nunmehr der Diskussion überlassen.

Zusammenfassung

Mit dem Ausbau einer systematischen Züchtung auf wissenschaftlicher Grundlage bei der Gartenerdbeere tritt die Frage der Elternwahl für die Kreuzungszüchtung immer mehr in den Vordergrund. Die hybridogene Natur und die hohe Polyploidie erschweren eine genetische Analyse. Ausserdem zeigen die Ergebnisse der bisherigen Züchtungsarbeit und die Erfahrungen des Anbaus eine ungewöhnlich starke Variabilität in der Anpassungseignung, die auf der vielfältigen Reaktionsweise der Kultursorten der Gartenerdbeere auf klimatische und photoperiodische Aussenbedingungen beruht. Eine erfolgreiche Züchtung kann also nur unter Berücksichtigung dieser jeweiligen Bedingungen erfolgen, da die Ausprägung der angestrebten Werteigenschaften von der Adaptation an den Standort abhängt. Diese Adaptation ist in den vorhandenen Kultursorten letzten Endes festgelegt durch ihre Abstammung von bestimmten Wildformen mit bestimmten ökotypischen Eigenschaften. Für eine langfristige Zuchtplanung, die einen höchstmöglichen Selektionseffekt gewährleistet, bestehen nachfolgende Voraussetzungen :

1. — Die Erforschung der physiologischen Grundlagen des vegetativen und generativen Entwicklungsrhythmus und die Anwendung der gewonnenen Erkenntnisse bei der Elternwahl ;

2. — Die Klärung der Abstammungsverhältnisse der Kultursorten in internationaler Zusammenarbeit, um eine möglichst breite ökologische Basis für die Kombinationsplanung zu gewinnen ; und

3. — Die Erarbeitung von Methoden, die eine weitgehend exakte Zuchtwertbestimmung unter Berücksichtigung der klimatischen und photoperiodischen Bedingungen der jeweiligen Zuchtgebiete sicherstellen.

Idées fondamentales sur le choix des parents pour l'hybridation en vue de la sélection à longue échéance

Résumé

Avec le développement d'une sélection systématique du fraisier, sur une base scientifique, la question du choix des parents devient de plus en plus importante pour l'hybridation. La nature éminemment hybride et le haut degré de polyploïdie des variétés rendent l'analyse génétique difficile. Les résultats des travaux d'amélioration dont nous disposons jusqu'à présent, montrent d'ailleurs une variabilité énorme de l'adaptation. Ceci explique les réactions très variables des variétés cultivées en présence des conditions climatiques, du photopériodisme et du milieu. Une amélioration fructueuse peut donc être effectuée seulement sous ces différentes conditions, parce que l'expression des caractères dépend de l'adaptation à l'habitat. Cette adaptation de nos espèces cultivées, enfin, est prédéterminée par leur descendance d'espèces sauvages possédant des caractères écotypiques. Pour une amélioration à longue échéance, qui devra garantir l'effet le plus grand possible de sélection, les suppositions suivantes doivent être prises en considération :

1) Recherches en vue des bases du rythme végétatif et génératif du développement, et application des résultats pour le choix des parents.

2) Détermination des relations de la descendance des espèces cultivées sur le plan d'une collaboration internationale, afin d'obtenir une base aussi grande que possible pour le projet de combinaison.

3) Établissement des méthodes permettant une détermination de la valeur améliorative aussi exacte que possible, en vue des conditions climatiques et photopériodiques suivant les diverses régions.

Fundamental ideas about the choice of cross parents for the establishment of long-term breeding work

Summary

Together with the elaboration of systematical breeding of strawberry on a scientific basis, the question of parents' choice gains increasing significance for crossings. The genetical analysis is handicapped by hybridogenic nature and high polyploidy. Besides, the results of the breeding work done

until now and the experience of growing show a high variability of adaptation, which is due to the manifold way of reaction of cultivated species of the strawberry depending on climatical and photoperiodical environment conditions. A successful breeding, therefore, can only be done when considering these conditions, since the expression of the valuable properties aimed at depends upon adaptation to habitat. This adaptation, finally, is determined in our cultivated species by their descendance from distinct wild species with distinct ecotypic properties. For a long-termed breeding plan which must guarantee the highest selection effect, the following conditions have to be considered :

1. — Research for the physiological basis of the vegetative and generative rhythm of development, and application of the gained results for the choice of parents.

2. — The identification of the relations of descendance of cultivated plants in international coworking in order to gain a broad ecological basis for combined planning.

3. — The establishment of methods for determining the breeding value as exactly as possible, in view of the climatical and photoperiodical conditions of the breeding regions in question.

Méthodes de recherches dans les croisements basées sur les caractères végétatifs des plantes parentales et hybrides

par R. Linden

Chef de Travaux à la Station d'Amélioration des Plantes fruitières et maraichères, Grand-Manil (Gembloux) (Belgique)

Le fraisier a toujours constitué une plante de prédilection pour les créateurs de nouvelles variétés. La littérature horticole mentionne d'innombrables semeurs dont la passion créatrice s'est concrétisée par l'attribution de leur nom à une obtention qu'ils estimaient particulièrement heureuse. En vain en cherchons-nous la trace dans les collections et moins encore dans les fraisières.

Depuis 10 ans, rien que dans notre pays, on peut chiffrer à plus de 100 le nombre de variétés qui firent une apparition fugace dans l'assortiment variétal. A part de rares exceptions, il s'agit de semis naturels ayant germé au hasard dans une parcelle, d'un semis d'akènes prélevées sur des fruits de belle apparence. Ces plantes sont généralement vigoureuses, saines et prolifiques, mais leur heureux comportement ne dépasse pas deux ou trois ans.

Cette déroutante dispersion des caractères chez les nouveautés créées s'explique par la cascade de croisements qui ont abouti à nos variétés cultivées. Le fraisier est une plante allogame. La fécondation des ovules s'opère, dans la majorité des cas, par du pollen provenant d'une autre plante. Fréquemment, il existe un décalage entre la production de pollen fonctionnel par une fleur et la réceptivité des stigmates de la même fleur. Ce phénomène est pratiquement la règle en ce qui concerne la fécondation des premières fleurs épanouies de nombreuses variétés cultivées. Cette succession de croisements naturels ou artificiels intervariétaux ou même interspécifiques entraîne la constitution d'une patrimoine génétique très hétérogène. Les phénotypes produits révèlent des caractéristiques multiples et divergentes. Sans doute dans des parcelles suffisamment étendues d'une même variété peut-on admettre qu'une fécondation autogamique clonale est très fréquente mais dans ce cas encore, les hybrides obtenus sont très dissemblables.

Après une découverte apparemment intéressante, l'obtenteur n'a pas à s'inquiéter de fixer génétiquement sa nouveauté. La multiplication végétative permet une diffusion rapide de la variété. Rien d'étonnant que chaque variété et même chaque clone disposent d'un potentiel génétique très complexe.

La première partie traitera de quelques caractères végétatifs que le chercheur souhaite voir apparaître dans ses hybrides et de la transmission de ces caractères.

Dans la seconde partie, je vous exposerai les résultats d'observations effectuées à la Station fruitière et maraîchère de Grand-Manil en vue de détecter d'éventuelles corrélations entre les manifestations végétatives apparentes au stade post-cotylédonnaire des semis et des caractéristiques intéressantes ultérieures.

Le fraisier à gros fruits non remontant, *Fragaria ananassa* de Duchesne, possède une garniture chromosomique 2 n = 56 chromosomes, répartis en 4 paires de 7 génomes. Les caractères induits par les gènes peuvent être aussi multiples que différents. Dans les descriptions de variétés que nous effectuons, quelque 50 macrocaractères sont successivement étudiés. Nous n'envisagerons que les principaux, ceux qui intéressent directement les objectifs des croisements.

Nous allons, si vous le voulez, suivre un plant de fraisier pendant un cycle végétatif.

1. — Le comportemant pendant les froids hivernaux : l'observation de la phase d'inactivité végétative pendant la période hivernale permet de déceler les différences sensibles de comportement.

Les variétés acclimatées dans des aires géographiques à hiver rude se carcatérisent par un besoin prononcé de repos. Leur culture sous des latitudes exemptes de froid entraîne une désorganisation des phases de développement. Le rythme de l'apparition des feuilles et la fructification sont contrariés. Par contre, les variétés de régions plus chaudes n'accusent qu'une faible dépression de leur activité au cours de la saison plus froide.

La transmission du caractère « comportement hivernal » n'est pas définie. Des études ont toutefois démontré l'hérédité de la tendance à un repos. *Fr. chiloensis* et les genres apparentés montrent une faible tendance à une phase inactive. *Fr. virginiana* et les genres voisins (*Fr. ovalis*) accusent par contre une phase de repos très marquée.

2. — Le caractère « sexe des fleurs » est très important dans les cultures sous verre.

Il est rare qu'une variété présente, dans toutes les fleurs qui se succèdent sur les hampes florales, des caractéristiques uniformes. Des plantes peuvent porter :

a — des fleurs unisexuées femelles : Tardive de Léopold, Fréja ;
b — des fleurs unisexuées mâles. Il n'y a pas d'exemple de variété cultivée ;
c — 1) des fleurs hermaphrodites pendant toute la durée de la floraison,

2) des fleurs hermaphrodites avec une tendance à la présence d'organes femelles non fonctionnels (stigmates atrophiés allant jusqu'à l'atrophie des ovaires)
3) des fleurs hermaphrodites avec tendance à la présence d'étamines non fonctionnelles dans les premières fleurs des inflorescences.

Du point de vue génétique, il n'existe que deux génotypes : plantes femelles d'une part, et plantes à fleurs hermaphrodites avec tendance à l'unisexualité mâle d'autre part.

Des multiples croisements effectués par de nombreux chercheurs ont abouti aux conclusions suivantes :

♀ × ♂ → 50 % ♀♀ + 50 % ♂♀ à ♂♂
♀ × ♂♀ → 50 % ♀♀ + 50 % ♂♀ à ♂♂
♂♀ × ♂♀ → 100 % ♂♀ (à ♂♂)
♂♀ × ♀ → 100 % ♂♀ (à ♂♂)

Il apparaît donc que les plantes hermaphrodites et unisexuées mâles sont homozygotes pour ce qui concerne le facteur genre des fleurs, on les symbolise d'ailleurs par XX, tandis que les plantes unisexuées femelles sont hétérozygotes pour ce qui concenre le facteur genre de la fleur.

Il importe donc, lors de l'élaboration des programmes de croisements, d'introduire des variétés parentales telles que les premières fleurs des inflorescences primaires puissent être fécondées normalement et rapidement. Il convient de noter que les conditions de culture, d'éclairement et de température ont une forte influence sur le type de fleurs et leur qualité.

3. — La précocité de floraison : Monrow et Darrow ont établi que la précocité de floraison était un facteur important dans la recherche de variétés à rendement élevé. Il existe une corrélation entre la précocité de floraison et le rendement quantitatif des variétés.

4. — La date de maturité : de nombreuses hybridations sont effectuées avec, comme objectif, un décalage de la date de maturité des fruits, soit l'obtention de variétés très hâtives, soit des variétés plus tardives.

L'examen des tableaux de maturité indique qu'un faible pourcentage des hybrides mûrit plus tôt que le plus hâtif des parents et qu'un plus fort pourcentage mûrit plus tard que le plus tardif des parents.

5. — La grosseur moyenne des fruits : c'est un des objectifs majeurs de notre travail actuel. En effet, les frais de cueillette représentent une

fraction très importante du prix de revient de la culture fraisière. Toutefois, la grosseur du fruit de variétés telles que Madame Moutot et Souvenir de Charles Machiroux, par exemple, permet des rendements horaires nettement supérieurs à ceux obtenus avec les autres variétés cultivées. Ce n'est pas seulement la grosseur absolue des fruits qu'il importe de rechercher dans les croisements, c'est une grosseur ou un poids moyen des fruits élevés.

L'étude de l'hérédité du caractère grosseur du fruit par autofécondations successives est malaisée en raison de l'affaiblissement et du manque de productivité des plantes résultant de ces autofécondations.

Sur le sujet du calibre et de la régularité des obtentions nouvelles, des observations multiples se contredisent.

Une constatation encourageante se dégage toutefois. En effet, dans la combinaison entre variétés parentales, les croisements ont tendance à produire des fruits de plus en plus gros.

La panachure printanière. Ces dernières années, l'attention des spécialistes a été attirée par une manifestation non pathogène propre à certaines variétés. Au cours de printemps à nuits relativement froides, les feuilles des fraisiers présentent une décoloration typique de la surface foliaire. Par la suite, cette décoloration disparaît mais les plantes sont affaiblies et le rendement s'en ressent. Les années suivantes, le phénomène s'amplifie. En serre, cette panachure est rarement observée. Des essais de transmission ont démontré que la panachure printanière n'avait rien de commun avec les affections virologiques. Il s'agit d'une modification du plasma cellulaire dont la cause est inconnue.

Des plantes atteintes transmettent cette déficience à la descendance végétative et générative. C'est un caractère héréditaire récessif. Il est présent chez un certain nombre de variétés, notamment Auchincruive Climax qui a pratiquement disparu des cultures à la suite de cette affection, chez Madame Moutot, Surprise des Halles, Triomphe de Tihange, Reine de Tihange et quelques autres variétés d'importance moindre. Les tableaux annexés à la communication revèlent la fréquence d'apparition de la panachure dans un ensemble de croisements effectués à la station de Grand-Manil au cours des dernières années.

Il existe encore plusieurs critères d'appréciation des hybrides dont il convient de tenir compte. La destination du fruit doit toujours être présente à l'esprit de l'observateur.

Une fraise destinée à l'utilisation industrielle sera d'un calibre inférieur à celui de la fraise destinée à la consommation directe. Par contre, sa maturité devra s'effectuer dans un délai très court pour

permettre la récolte en deux ou trois passages. L'adhérence du calice au fruit, la fermeté de la chair, font parfois l'objet d'une attention particulière.

Je ne vous ai pas parlé de l'arôme, du parfum, de la couleur des fruits. Ces caractères se transmettent héréditairement mais ils sont très subjectifs et fortement sous la dépendance des conditions culturales, de la fumure et de la nature du sol.

Observation de la panachure printanière dans les semis

Senga senganga × Madame Moutot : 7 %
Senga sengana × Régina : 0 %
Triomphe de Tihange × Surprise des Halles : 8 %
Merveilleuse de Tihange × Ydun : 6 %
Cambridge Early × Madame Moutot : 10,6 %
Cambridge Early × Surprise des Halles : 0 %
Triomphe de Tihange × Senga sengana : 4,1 %
Triomphe de Tihange × Climax S.C. 53 : 49,8 %
Reine de Tihange × Ydun : 75,6 %
Souvenir de Charles Machiroux × Climax S.C.53 : 75,4 %
Souvenir de Charles Machiroux × Climax S.C.53 : 35,4 %
Madame Moutot × Ydun : 32,7 %
Climax M.49 × Merveilleuse de Tihange : 81,6 %
Climax M.49 × Triomphe de Tihange : 77,1 %
Climax M.49 × Ydun : 50 %
Climax M.49 × Surprise des Halles : 50 %
Ydun × Climax M. 49 : 76,4 %
Climax M.49 × Surprise des Halles : 76,4 %
Souvenir de Charles Machiroux × G. Soltwedel : 8 %

RECHERCHE DE CORRÉLATIONS POUVANT EXISTER ENTRE DES MANIFESTATIONS VÉGÉTATIVES APPARENTES AU STADE POST-COTYLEDONAIRE DES SEMIS ET DES CARACTÉRISTIQUES INTÉRESSANTES ULTÉRIEURES

Dans les travaux de croisements sur fraisier, on est surpris de constater combien est important le nombre de plantes éliminées au cours des observations successives. Deux ou trois numéros, c'est tout ce qui reste de plusieurs milliers de semis après 3 ou 4 ans d'éliminations. Un important et fastidieux travail est ainsi consacré à des lignées sans valeur. Nous avons pensé que la recherche de corrélations permettant une élimination très précoce des plantules aux caractéristiques indésirables était souhaitable.

L'examen des semis révèle des différences sensibles de comportement dès le stade des premières feuilles post-cotylédonaires. Les premières

feuilles qui apparaissent sont unilobées. La première feuille trilobée occupe le troisième, le quatrième, le cinquième et parfois le sixième ou le septième rang. Ce plus ou moins rapide abandon de la forme de jeunesse n'était-il pas en rapport avec des caractéristiques telles que la précocité de la variété ou le rendement.

Nous avons soumis nos observations à des calculs de droite de régression et de coefficient de corrélation.

En abscisse, X, nous portions le rang d'apparition de la première feuille trilobée, en ordonnée Y, le rendement ou la précocité exprimée conventionnellement.

La pente de droite de régression est égale à la somme des xy, divisée par la somme des x^2.

L'équation de la droite de régression est donnée par la formule : $y-m=p\ (x-m)$.

Le coefficient de corrélation est donné par la formule :

$$r = \frac{\text{somme } xy}{\sqrt{\text{som } x^2 . \text{ som } y^2}}$$

Dans aucun cas, nous n'avons trouvé de coefficient significatif, il ne nous était donc pas permis d'ajuster une droite passant par les différents points.

Nous poursuivons actuellement des observations sur d'autres caractères apparents dès les premières semaines de la vie du fraisier.

De ces quelques considérations sur les caractères végétatifs des croissements et des variétés parentales, sur la transmission de ces caractères, il faut conclure que le meilleur outil de travail réside dans un sens aigu de l'observation joint à une connaissance approfondie des réactions du fraisier. Il convient de replacer constamment le fraisier dans le cadre cultural, physiologique ou pathologique qui l'attend après avoir passé avec succès à travers le crible des éliminations successives.

Si les données de génétique et d'hérédité des caractères ne sont pas encore d'un grand secours au moment de l'établissement des programmes de croisement, l'expérimentateur dispose de trois arguments qui facilitent et agrémentent grandement son travail :

1) La facilité de la technique opératoire des croisements
2) La relative rapidité de l'observation des résultats
3) La possibilité d'une multiplication végétative qui ne réclame pas la fixation génétique des caractères apparus. Cette fixation serait d'ailleurs pratiquement irréalisable sur fraisiers.

Résumé

Par suite de la complexité et de la nature du patrimoine génétique des variétés de fraisiers à gros fruits, on constate une déroutante dispersion des caractères chez les hybrides.

Le fraisier, plante allogame, se multiplie végétativement. Les obtenteurs de nouvelles variétés, soit accidentellement, soit à la suite d'un plan de travail préétabli, n'ont jamais eu à s'inquiéter de fixer génétiquement les caractères intéressants apparus dans leurs nouveautés.

Il est donc malaisé, sinon impossible, de choisir, à priori, une série restreinte de variétés parentales destinées aux croisements.

Le travail d'observation s'effectue postérieurement aux hybridations.

Le chercheur se fixe un ensemble de critères qu'il souhaite voir apparaître dans ses nouvelles variétés et effectue ses croisements dans cette perspective.

L'expérience lui apprend les variétés parentales les plus intéressantes.

Comme objectifs majeurs de son travail d'amélioration, il souhaite, pour notre pays :

1) Obtenir des fraises très grosses, régulières et de maturité uniforme.

2) Obtenir des variétés hâtives, hermaphrodites et pourvues de pollen dans les premières fleurs.

3) Produisant des stolons tôt afin de permettre une plantation hâtive.

4) Pour les variétés à destination industrielle, l'aptitude aux traitements de surgélation ou pour la confiturerie.

Methods of investigation in crossings based upon the vegetative characters of parental and hybrid plants

Summary

As a consequence of the complexity and the nature of genetic inheritance in the varieties of large fruit strawberry, a disconcerting dispersion of characters appears in hybrids.

Strawberry, an allogamic plant, is reproduced vegetatively. Breeders of new varieties obtained either by chance or from a pre-established working plan, never had to bother about genetically fixing the new interesting characters.

It is thus difficult, if not impossible, to select, a priori, a limited series of parental varieties intended for crossings. Observation work takes place after hybridizations.

The breeder considers a number of characters which he would like to appear in his new varieties, and makes his crossings accordingly.

He knows from experience what parental varieties are the most interesting.

The main objects for his breeding work to be wished for in this country are :

1) To obtain very large and regular strawberries ripening at the same time ;

2) To obtain early, hermaphrodite varieties with pollen in the first flowers ;

3) To obtain varieties producing runners early for planting.

4) To obtain varieties intended for industrial purposes, convenient for freezing and jam making.

Forschungsmethoden in den Kreuzungen, die auf die vegetativen Eigenschaften der Eltern- und Hybridpflanzen gegrundet sind

ZUSAMMENFASSUNG

Infolge der Vielseitigkeit und der Art des genetischen Erbteils der Erdbeersorten mit grossen Früchten stelt man bei den Hybriden eine irre führende Zerstreuung der Eigenschaften fest.

Die Erdbeere, die eine allogame Plfanze ist, pflanzt sich auf vegetativem Wege fort. Diejenigen, die neue Sorten erhalten sei es durch Zufall oder infolge eines vorgesehen Arbeitsplans brauchen sich niemals darum zu kümmern, die in ihren Neuheiten erschienenen interessanten Eigenschaften genetisch zu fixieren.

Somit ist es schwierig oder gar unmöglich, im voraus eine begrenzte Reihe von Elternsorten zu wählen, die zur Kreuzung bestimmt wären.

Die Beobachtungsarbeit wird nach dem Hybridieren ausgeführt.

Der Forscher legt eine Gesammtheit von Eigenschaften, die er in seinen neuen Sorten aufzutreten wünscht, fest und führt seine Kreuzungen in diesem Sinne aus.

Die Erfahrung lässt ihn die interressantesten Elternsorten erkennen.

Als Hauptmerkmale seiner Verbesserungsarbeit wünscht er sich für unser Land :

1) Sehr grosse, eintheitliche Erdbeeren mit gleichmässiger Reife zu erhalten.

2) Frühe, hermaphrodite Sorten mit Blütenstaub in den ersten Blüten zu erzielen.

3) Frühzeitig Stolonen zu bilden, damit frühzeitig gepflanzt werden kann.

4) Für die Industrie bestimmte Sorten die Eignung zum Tiefgefrieren und zur Marmeladenverarbeitung zu haben.

The use of strawberries

by Hester G. KRONENBERG
Institute for Horticultural Plantbreeding, Wageningen (Pays-Bas)

1. — Introduction

In a way strawberries are a luxury product. When in spring we see the first earlies in the shops again, we welcome them as a sign of the approaching summer with its wide variety of fresh fruits.

Strawberries do not belong to such elementary foodstuffs as bread, potatoes, meat and vegetables, which are the necessities of life. But they are among those fruit products which, by their attractive appearance and lovely pleasant flavour, have a stimulating effect on the appetite, and our entire health.

This is partly due to such constituents of strawberries as sugars, acids and vitamin C. But would that be a reason to eat them? I do not think so.

I have been asked to say a few words on the use of the fruits. To start with, I would say that it is never advisable to restrict oneself to judging the fruits alone, independently of other varietal characters.

The value of a variety or selection is determined by a complex of many characters, those of the fruits forming only part of them.

If a variety is to be grown profitably, attention should be given to the following important points:

1) Reliability of yield.

2) Productivity.

Varieties which do not satisfy these first requirements cannot be profitably grown.

3 The qualities of the fruit as such, and the requirements it has to meet.

2. — Fruit requirements

In the Netherlands strawberries are mainly grown commercially. When speaking of the use of the fruits, we think of the processes through which they pass after they have been picked till they reach the consumer, their ultimate destination.

All berries destined for the fresh fruit market as well as for the industry pass through the local auctions to the distributors or to the processing factories.

The requirements of these groups of buyers are more or less different.

1°) The consumer. The consumer, in most cases the housewife, generally buys the berries on appearance. So the fresh fruits should in the first place be attractive in appearance, that is sound and not bruised. Furthermore, the larger they are, the better. Hence the soon condemned Madame Moutot still finds a market.

The taste is only a second consideration, at least in the Netherlands and I believe also in various other countries.

Nevertheless we should see to it that our fresh strawberries retain a reasonably good taste, because they might otherwise be superseded by other fruit. Hence the unpalatable Madame Lefèbre has recently been deleted from the Dutch variety list.

In my opinion the nutritive value of the berries does not play an important role in buying strawberries, as is shown from the fact that in the Netherlands only rather more than one pound of fresh berries is consumed per head of the population.

Also for processing the appearance of the berries is of vital importance. Consequently the products should be nicely red in colour (naturally or artificially coloured), and in every respect be as attractive as possible.

2°) The trade. The link between the grower and the consumer is the trade for which good keeping quality is most important. So the berries have to be firm, of good handling quality, and little susceptible to rot.

3°) The industry. The largest buyer of strawberries in the Netherlands is the processing industry, which takes from 60-70 % of the total production.

The fresh product is used mainly for the making of pulp and jam, and for canned and frozen-packed fruits.

By applying the correct technique it is possible to keep certain qualities of the fresh product, like colour and flavour, on a high level. It is also possible to improve the product by making small corrections, for instance for colour, firmness and taste; furthermore one can use the purchased strawberries for those processes for which they are best suited.

Yet the possibilities of correcting the product are very limited. The factory can only make a good product from good berries. And it

is certainly not a good policy to send all the good berries to the fresh market, and the bad ones to the factory.

The fact is, however, that the factory has a preference for medium sized fruits, the large fruits being less suitable for processing. These should go to the fresh market for which purpose they have to be capped.

In the Netherlands processers want strawberries without caps. Varieties that are difficult to plug can therefore not be recommended for growing for the factories, although in practice it is sometimes seen that such varieties are also capped, if needed.

In addition the fruits must be regular in shape and size, without hard cores and nubbins, and ripening evenly. The fruits should preferably be of a bright red colour, both externally and internally, like that of Climax.

As regard flavour, a pleasant strawberry-flavour is still to be preferred. The berries must be sufficiently firm : not too soft lest they should fall apart, but not too firm either, as in the case of many American varieties. This applies particularly to berries used for jam, which are otherwise apt to become tough.

4°) The Grower.

The grower eventually decides on what varieties to cultivate. His aim is to get the highest possible profit per hectare. This is achieved by a high yield per surface-unit, low production costs and a high price.

Most of his other requirements concern the general employment-value of the variety which I will not discuss here.

3. — Selection

The breeder, who is going to select strawberry seedlings, must be acquainted with the requirements of growers, the trade, processers and the consumer. This can only be obtained from long experience and close observation. He must have a good breeder's eye and a profound knowledge of the existing varieties and cultural methods. In addition he should know how far certain qualities make the fruits fit for processing, and why.

At our institute at Wageningen we base our selection on this knowledge and experience.

Selection can be divided into 4 stages :

1. Selection of seedling-populations.

Apart from selection of the very young seedlings for disease-resistance, selection of seedling-populations is done in the field by eye judgement, by the feel, and lastly, by taste.

We mainly select for growth habit, vigour, health, productivity, quality of the stamens, fruit set ; and the fruits themselves for capping, appearance, size, shape, colour, firmness and taste. My assistants have acquired a great proficiency in this work, so they can handle thousands of seedlings in a few days.

2. Clonal selection.

Only a small percentage of the seedlings is retained. These are propagated on a small scale in the following years for further selection. In the first year this is done by eye-judgment only, whereas thereafter also the yield is determined, at first in single rows to get a general idea of the productivity of the clones, later in replicated trials. At the same time fresh fruits are judged. Notably the productivity is a decisive factor in determining the value of a selection.

Insufficiently productive selections, although being good in many other respects, will never become popular with the growers. This part of the work is exclusively done in our own trials fields.

3. Commercial trials.

The third stage of selection consists in determining the employment value in commercial trials, which are laid down in different localities in our country, in co-operation with the Horticultural Advisory Service. The aim is to get an impression of the value of promising new varieties and selections under varying local conditions ; these varieties and selections are indicated by number only.

The trials are checked and judged at intervals. At maturity the fruits are assessed by committees made up of practical growers, and people of the Advisory Service and of our Institute. On the basis of this judgement the various varieties are recommended or disapproved for further trial.

Thus is the last series of commercial trials, completed in 1959, two new varieties, the Gorella and the Vola, were approved. Both varieties are beginning to come into cultivation.

Since the commercial trials were started in 1952, we have succeeded in developing a most satisfactory working method. It would lead me too far afield to enter into this matter in more detail. May I therefore refer you to the recently published report of our last series of trials ?

But I would like to mention that this manner of judging works well in practice. In addition it promotes the contact between the breeder and the grower. It prevents the breeder from thinking that all his geese are swans. And the grower thus gets an idea of the newest products of strawberry breeding.

We are still grateful to the Danes, who at the time showed us this method of working.

4. Further assessment of the cultural value.

Varieties which received a favourable judgement in the commercial trials should be tested further at experimental stations and by growers. It mostly takes several years to know whether a variety is quite satisfactory or not.

Processing trials. Although judgment in the field already gives us some idea about the suitability of a variety for the industry, yet the varieties should also be subjected to processing trials after they have shown to possess a certain cultural value. These trials are not carried out at our Institute but at the Institute for Research on Storage and Processing of Horticultural Produce at Wageningen.

Fruits of promising new varieties are canned, frozen and usually also pulped for jam. In the course of the winter these fruits are judged by taste panels for a number of characters, such as appearance, firmness and flavour. Newly grown varieties are also tested by the processers themselves.

Trials have shown that one and the same variety may produce highly varying results. The quality of the fruits depends not only on the variety, but also on the weather conditions, soil, fertilizers, irrigation and other factors. Therefore one should be very careful not to base one's conclusions on too little information.

4. — **Are there other ways to determine fruit characters?**

As we have already seen, strawberry selection mainly depends on assessment by persons with sufficient practical experience and proficiency and being well-trained in making objective observations. In addition to being quick this method is sufficiently accurate.

Although we aim in this work at the highest possible degree of objectivity, we should always take into account the human restrictions of the people who have to do this work. The evaluation of some external characters like fruit size and shape, should not be difficult, as these characters can easily be shown by ratings. Also the firmness can be determined either by the touch or by using a simple apparatus.

More difficulties are experienced, however, in judging the flavour. When testing large numbers at a time, the tasters become soon tired, and their discriminatory power is lowered.

Therefore it would be advantageous to develop a quick and reliable method for determining the flavour.

Research into this matter has been carried out in Germany by von Sengbusch and co-workers who developed a paperchromatographic method for the quantitative and qualitative determination of the various sugars and acids of the fruits, which form part of the taste complex. This method certainly offers interesting prospects. Perhaps it might serve to supplement an organoleptic test and explain possible causes of differences in flavour.

The *aroma* raises a still more difficult problem. We know the aroma may vary widely in strawberries, both in regard to intensity and quality. The flavour may be typical of the strawberry, but also unpleasant, reminding of peach, banana or bugs. Strangely enough the peach flavour is often found to be associated with a pale red colour. It looks as if for the time being we shall have to be content with an organoleptic test, despite the costly gaschromatographs, which are available for research on aromatic substances. Extensive research will be necessary before practical results can be expected.

Another important point is the *fruit colour.*

Strawberries, destined for canning and deepfreezing, should have a bright red colour, throughout the fruit. This necessity becomes even more urgent in view of the increasing objections against the use of artificial colouring substances.

We judge the colour visually on the fresh fruits. If these have a good colour, then the colour for the canned and frozen product will normally also be good.

Yet it may be important for breeding to know more about the background of the composition and development of the strawberry colour, which is known to be a pelargonidine-glycoside.

The capacity of building this colouring matter is genetically determined and in the case of the octoploid strawberries may be present in 1-8 genoms. We may assume that the intensity of the red colour increases with an increase in the number of genoms which contain the factor or factors for red colour.

But where do the differences in colour come from, since we have bright red, but also brownish- and purplish red colours? Genetical research on this matter is difficult, however, because the colour intensity shows differences of degrees which gradually coalesce. Moreover the colour is strongly dependent on the degree of maturity of the fruit.

The degree of acidity may also have an effect on colour. This offers much scope for further basic research.

More is known about the vitamin-C content, which can rather easily be determined. It may range from 60-90 mg per 100 grams of fruit.

Within the variety there may also be great variation in this respect, depending on the sampling-date.

Hence selection for high vitamin-C would not be easy, and I do not think that it is justified to include it in the breeding programme.

As you have noticed, I have treated my subject from the cultural value viewpoint. The cultural value is also one of the main items in our breeding work at Wageningen.

However, as this work progresses, it becomes more and more necessary to enter more deeply into certain problems. To this end further basic research is required.

So the strawberry breeder should have an open eye for the requirements of the growers and the consumer and in addition he has to carry out basic research to achieve the aim of getting better varieties.

Summary

The breeder of new varieties should be well-informed as to the different requirement of the grower, the processor and the consumer.

The selection of seedlings and clones should in the first place be based on field observations on the fresh product.

It is fairly easy to apply the standards accepted for fruit destined for the fresh market, as such fruit reaches the consumer in practically unchanged condition.

It is more difficult, but by no means impossible, to judge and select the fresh fruit for processing qualities. To achieve this the breeder should know from experience how strawberries of certain external, and particularly internal, qualities respond to the respective processing methods (cold or heat treatment, addition of acid).

Judgment in the field should, however, always be supplemented by subjecting the clones to processing trials. As fairly large number of fruit samples are needed forthis purpose, these trials cannot be undertaken until after sufficiently large clones have been grown.

Utilisation des fraises

Résumé

Les obtenteurs de nouvelles variétés de fraises doivent tenir compte de la diversité des exigences du cultivateur, du fabricant de conserves et du consommateur.

La sélection de semis et de clones doit en premier lieu se baser sur des observations dans le champ sur le produit frais.

Il est assez simple d'appliquer les critères acceptés pour les fraises destinées

à la consommation immédiate, puisque ce fruit atteint le consommateur en état pratiquement inchangé.

Il est plus difficile, mais pas du tout impossible, de juger et sélectionner le fruit frais pour son aptitude à la conserve. A cet effet, il faut que l'obtenteur sache par sa propre expérience comment des fraises de certaines qualités extérieures, et notamment intérieures, réagissent aux différentes méthodes de préservation (traitement par le froid, chaud, addition d'acide).

Cependant, après le jugement dans le champ, il faut aussi soumettre les clones à des essais de conserve qui doivent être établis dans un stade de sélection avancé à cause du nombre élevé de fruits dont on a besoin.

Der Nutzwert der Beeren

ZUSAMMENFASSUNG

Der Züchter von neuen Sorten soll gut orientiert sein über die unterschiedlichen Ansprüche, die vom Anbauer, Konservenfabrikanten und Verbraucher an die Beeren gestellt werden.

Die Auslese von Sämmlingen und Klonen soll in erster Linie auf Feldbeobachtungen an dem frischem Produkt beruhen.

Es ist ziemlich einfach, die für das Frischprodukt geltenden Normen anzulegen, da dieses Produkt den Verbraucher in fast unverändertem Zustand erreicht.

Schwieriger ist es, jedoch keineswegs unmöglich, die frischen Beeren auf Konservierfähigkeit zu prüfen. Dazu ist es nötig, dass der Züchter aus eigener Erfahrung weiss, wie Erdbeeren mit bestimmten äussern, und besonders innern Qualitätseigenschaften auf die verschiedenen Konserviermethoden (Kälte- oder Wärmebehandlung, Zusatz von Säuren) reagieren.

Feldbeurteilungen müssen jedoch immer durch Verwertungsversuche mit den betreffenden Klonen ergänzt werden. Diese Versuche sind in einem späterem Selektionsstadium durchzuführen, damit man über eine genügende Anzahl Früchte verfügen kann.

Breeding strawberries

by R. D. Reid
Scottish Horticultural Research Institute, Auchincruive-Ayr (Royaume-Uni)

According to the programme, I am to speak on « Breeding Strawberries », and as the time allowed is 20 minutes, I can only deal very superficially with a few aspects of the subject as they have come within my personal experience. I think the whole object of the breeder may be summed up in three words : 1. Survival. 2. Productivity and 3. Quality. Some aspects of productivity have been discussed by the physiologists ; Miss Kronenberg has dealt with quality and later speakers will tell you of methods of disease and pest control in established varieties.

I am to try and tell you of some of the methods which we as plant breeders adopt in our efforts to produce new varieties which will have a high survival value when they are grown under commercial conditions.

In raising a new variety of strawberry the first essential is that it must be able to survive and produce a healthy plant in the particular environment in which it is to be grown. In their native habitats species of *Fragaria* have evolved which are adapted to every type of environment from the sandy or gravelly beaches of the Pacific coasts to the humus rich prairies of the Eastern states of America ; from the valleys to the mountain peaks of the Rocky mountains ; from Ecuador to Alaska. In our modern cultivated octoploid hybrids, all of these characters are potentially present and in the material available to the plant breeder there is a pool of genes from which he can select characters adapting them to any particular locality. Successful survival however demands not only suitability for the locality but positive qualities fo resistance to disease. Resistance to disease is natural to plants : if it were not so the species would long ago have become extinct. Much of this resistance to common diseases we are inclined to take for granted. Those of us in Europe who are breeding strawberries rarely talk of breeding for resistance to mildew or leaf spot diseases which we are inclined to consider as having a nuisance value but easily controlled by spraying. Yet when we raise a batch of seedlings we find that there are occasional plants which at an early age are severely dwarfed or often killed by some comparatively mild parasite. Thus, although resistance to such common

diseases is not a major or even an acknowledged item in our breeding project, yet we are automatically selecting those less susceptible. Many breeders in all parts of the world have been given more specific assignment of intensified breeding in order to obtain control over one special disease of local importance, a disease which may not be universally distributed but which has proved lethal to a particular crop in that locality. I have spent over 25 years on such a project, so I am proposing in my talk today to discuss with you some of our methods. The disease with which we have been concerned is Red Core Root Rot caused by the fungus *Phytophthora fragariae*.

This soil organism needs moisture in order to spread and becomes inactive at higher temperatures. Spread from plant to plant is by free swimming zoospores which are produced freely from sporangia growing from infected roots. These zoospores swim about in soil moisture and infect fresh roots. Infection is carried over in the soil by thick walled resting oospores. Main spread of infection is from October to March, depending upon the amount of moisture in the soil. Roots which have become badly destroyed during the winter are unable to meet the water requirements of the plant in spring and the plants wither up. In our breeding experience we have found that plants which are immune from infection for a number of years eventually become infected by new biologic races of the pathogen and that the capacity of the pathogen to produce new races is apparently unlimited.

In addition to actual immunity to specific races of the pathogen we are finding that selections are emerging which while capable of becoming infected have a remarkable ability to survive attack without collapse. For these we use the term « Field Resistance ». It is now our objective to produce varieties which are immune from as many races as possible and which have an overall resistance to collapse even when they do become infected by a specialised biologic race.

We have three methods of testing for resistance :

1. Laboratory method using spore suspension dip.
2. Glasshouse method using benches containing soil infected by natural inoculum.
3. Field testing by planting in naturally infected field.

Each method has its uses and its limitations.

1. Spore suspension dip is based on a method devised by Dr. Hickman and modified by our mycologist, Dr. Montgomerie. The fungus is grown as a pure culture in bean agar. Colonies are floated in a nutrient solution, and after 48 hours abundant zoospores are being released into the solution. Roots of young plants are immersed in

this supension for 48 hours, thereafter planted in pots containing sterilised vermiculite. In 14 days time the roots are examined for infection. This method is very useful for testing large numbers of young seedlings and is invaluable for indexing to specific biologic races. Its limitations include the fact that it does not readily distinguish those seedlings which although susceptible possess field resistance.

2. Bench testing was originally used in America, and has been adapted to our own conditions. Specially constructed concrete benches in a glasshouse are filled with naturally infected soil. Seedlings when big enough to handle are pricked out into these benches in rows 2 inches apart and about 2 inches between plants in the row. They are examined in 6 to 8 weeks time, susceptibles discarded and those not infected carried forward to field testing. We have been able to test three successive batches of seedlings in one year, but the limiting factor is temperature. When soil temperature rises much above 50°F infection is slight, so we sometimes omit the summer months, and have one batch of seedlings from September to December, and a second batch from January to April. This method is very useful when regarded as an extension of field testing.

3. Field testing is the ultimate and only method of ascertaining which selections are able to grow and crop successfully in the presence of natural infection. The field which we use has had a history of infection for over 25 years ; moreover it is situated in a district where the average rainfall is 36 inches per year. This field is so heavily infected that it is impossible to grow ordinary varieties in its. This very drastic field test also provides valuable information on the « survival value » of a seedling when exposed to unfavourable environmental conditions including the presence of minor diseases and pests.

In practice our breeding may be divided up into (a) fundamental long term work in which the object is to obtain information on sources of resistance and its inheritance, and (b) short term applied work in which the object is to produce varieties suitable for introduction at an early date. As the long term programme advances, the results are incorporated into the applied breeding programme.

The first method of testing, i.e. spore suspension dip, is used mostly in the fundamental studies so that any information collected may be related to known races of the pathogen ; the bench test is used as a first screen in the short term breeding work so as to economise in time, labour, and space, as compared with field testing. By testing seedlings, and we raise about 10,000 to 12,000 per year, in the bench we can eliminate about 50 % of them before planting them in the field. Those

surviving the bench test are planted in the field at one yard apart and runner production restricted to a few per plant. As the end of the first winter after planting, the root system of each seedling is examined for infection but all plants are allowed to remain *in situ* until they have fruited. By this time there will be marked segregation between those which are resistant and those which are susceptible. During fruiting they are examined twice per week and selected, somewhat empirically, for future more extended trial. Normally not more than 1 % of the year's crop of seedlings is judged worthy of a second fruiting trial.

From then onwards the practice varies according to current circumstances. Always we try to establish a 4-plant unit which is allowed to from a matted bed and this is again brought to fruiting in infected soil. Always in this extended trial it is found that many selections break down. If we want early information as to the fruiting potentialities of a selection we are making increasing use of cloches : four plants of each selection being planted. In the next stage we like to have re-selections fruited at another centre ; at our main station at Mylnefield in the east of Scotland, and the best of the selections also at the National Fruit Trials in England (Brogdale).

The fact that all our preliminary testing is done in infected soil raises many problems because under no circumstances can we run the risk of distributing disease attached to the roots of apparently healthy lpants. Runners from selected seedlings are therefore rooted into boxes of sterilised soil and this process may be repeated with increasing precautions to prevent contact with contaminated soil, by raising the boxes on a framework above the banches, by layering directly into polythene bags filled with sterilised rooting medium or even by detaching the stolons and using them as cuttings.

Having secured a stock of our chosen selection a plant is virus tested by grafting a detached stolon to a suitable indicator plant of *F. vesca.* A virus free clonal stock can thus be built up to supply plants in the first instance for extended trials and if considered worthy, to produce stocks for introduction.

Time does not permit me to discuss the vegetative aspects of productivity as evidenced by bud production but I have brought a few slides to show something of what we are trying to obtain in some of our more recent selections ; these show 1. Field resistance to disease. 2. Potential productivity shown by multiple crowns and 3. General types of fruit which we are now selecting.

Summary

Vegetative Characters

1) Plants must have foliage and roots adapted to the particular environment in which they are to be grown.

2) They must have some general all-round resistance to common diseases such as Mildew and Leaf-spot. This is not necessarily a major objective in breeding but is obtained indirectly by field selection of those least susceptible.

3) Specialised breeding may be based on resistance to or immunity from a disease of local importance. In our case this is Red Core Root caused by the fungus *Phytophthora fragariae*. Breeding experience over 25 years has shown that complete immunity does not persist because of the development of new biologic races of the pathogen. Several different sources of immunity from somes races are in use. Other breeding sources show « field resistance » to collapse even when roots are infected. The objective is to produce varieties immune from some races and resistant to all.

Methods of testing are :

(a) Laboratory method using spore suspension dip.
(b) Glasshouse method using benches containing soil infected with natural inoculum.
(c) Field testing by planting in naturally infected field.

4) Special techniques of propagation are adopted to prevent selections carrying infection of soil-borne fungi or of virus diseases.

Croisements chez les fraisiers

Résumé

Caractères Végétatifs

1) Les plantes doivent avoir un développement foliaire et un enracinement adaptés aux conditions particulières dans lesquelles elles seront cultivées.

2) Elles doivent posséder une résistance caractérisée aux maladies communes, telles que : oïdium et le mycosphaerella. Ce n'est pas un objectif majeur des croisements, mais il est obtenu indirectement par la sélection en champ des lignées les moins sensibles.

3) Des croisements orientés peuvent être basés sur la résistance ou sur l'immunité envers une maladie d'importance locale.

Pour ce qui nous concerne, il s'agit de la pourriture rouge des racines occasionnée par le champignon *Phytophthora fragariae*.

L'expérience de 25 années d'hybridation nous a montré que l'immunité totale ne se maintient pas par suite du développement de nouvelles races biologiques du champignon. Différentes sources d'immunité provenant de certaines races sont utilisées.

D'autres sources montrent une « résistance au champ » au flétrissement, même lorsque les racines sont infectées. Le but est de produire des variétés immunes à certaines races et résistantes à toutes.

Les tests utilisés sont :

a) Méthode de laboratoire utilisant le trempage dans des liquides contenant des spores en suspension.
b) Methode en serre, en utilisant un substrat contenant du sol infecté naturellement,
c) Le test en champ en effectuant la plantation dans des parcelles infectées naturellement.

4) Des techniques spéciales de multiplication sont utilisées pour éviter la contamination des clones sélectionnés par les maladies à virus et par les sols contenant des champignons de *Phytophthora*.

Kreuzungen bei der Erdbeere

ZUSAMMENFASSUNG

1) Die Pflanzen müssen in ihrer Blatt- und Wurzelentwicklung den besonderen Bedingungen ihrer Umwelt angepasst sein.

2) Sie müssen einen charakteristischen Widerstand gegen allgemeine Krankheiten besitzen wie : Oidium und Mycospherella. Dies ist kein Hauptziel für das Kreuzungsprogramm, aber man kommt indirekt dazu durch die Freilandauslese von weniger sensibelen Linien.

3) Gerichtete Kreuzungen können auf der Resistenz oder der Immunität gegen eine Krankheit von örtlicher Bedeutung basieren.

Bei uns handelt es sich um die Rotwurzelfäule, die durch die Pilz *Phytophthora fragariae* hervorgerufen wird.

25-jährige Kreuzungserfahrung hat uns gezeigt, dass sich die totale Immunität nicht durch die Entwicklung neuer Rassen — biologischer Rassen des Pilzes — erhält. Verschiedene Immunitätsquellen, die sich von verschiedenen Rassen herleiten, werden benutzt.

Andere Quellen zeigen eine « Feldresistenz » hinsichtlich des Welkens, selbst wenn die Wurzeln infiziert sind. Das Ziel ist, Arten zu züchten die gegen bestimmte Pilzrassen immun, und gegen alle resistent sind.

Folgende Tests wurden angewandt :

a) Laboratoriumsmethode durch Eintauchen in Flüssigkeiten, die Sporen in Suspension enthalten.
b) Treighausmethode, ein Substra tumbenutzend, das aus einem natürlich infiziertem Boden besteht.
c) Der Feldversuch, wobei man die Pflanzung in natürlich infizierte Parzellen vermeidet.

4) Spezielle Vermehrungtechniken werden zur Ansteckungsvermeidung der selektierten Klonen durch Viruskrankheiten und durch Phytophthora-verseuchte Böden angewandt.

Aspekte der Polyploidiezüchtung in der Gattung Fragaria

von Dr. R. Bauer
Max-Planck-Institut, Vogelsang-Köln (Allemagne occidentale)

Nach der Behandlung der physiologischen und genetischen Verhältnisse bei den *F. ananassa*-Kultursorten und der Diskussion der Probleme ihrer Züchtung mag eine Besprechung der Kombinationsmöglichkeiten mit anderen Arten das bislang gewonnene Bild ihres Züchtungsverhaltens vervollständigen.

1. — Kulturform der Gattung

Von den vier Polyploidstufen, in die sich die 19 Hauptarten der Gattung (Grundzahl n = 7) aufgliedern, haben sich bislang nur Arten aus der oktoploiden Speziesgruppe als brauchbar erwiesen für die Entwicklung ertragreicher, ökologisch genügend differenzierter Kulturformen mit grossen und vielseitig verwendbaren Früchten : *F. ananassa* Duch., als ein in Europa spontan entstandener Bastard und seine im Ursprungsgebiet (Amerika) geographisch isoliert gebliebenen Stammarten *F. chiloensis* (L.). Duch. und *F. virginiana* Duch. Selektionsversuche bei anderen Arten, wie sie zunächst in Europa bei den dort beheimateten diploiden Spezies *F. vesca* L. und *F. viridis* Duch. oder bei der hexaploiden *F. moschata* Duch. und später auch bei der aus Amerika eigeführten *F. virginiana* Duch. unternommen worden waren, führten zwar durch einfache Auslese zu Kulturformen mit etwas über ihre Stammarten hinaus verbesserten Leistungsmerkmalen und zu grösserer Typenmannigfaltigkeit, verschwanden jedoch bald nach der Entstehung der in der Fruchtgrösse weit überlegenen *F. ananassa*-Kulturformen. Nur die von *F. vesca semperflorens* sich ableitende « Monatserdbeere » (alpines, fraisier des quatres saisons) konnte sich im Ursprungsgebiet (Europa) bis heute als Hausgartenform in einigen Varietäten erhalten, vor allem auf grund ihrer überlegenen Geschmacksqualität und der über die ganze Vegetationsperiode ausgedehnte Erntemöglichkeit.

2. — Zuchtverhalten der Monatserdbeere

Als diploide und auch abstammungsmässig hermaphrodit und selbstfertil veranlagte Kulturform bietet ihre züchterische Bearbeitung im Gegensatz zu den Verhältnissen bei der oktoploiden und hybridogenen Gartenerdbeere keine Schwierigkeiten. Ihre Rankenlosigkeit begünstigte ihre Vermehrung durch Samen, wobei Homozygotie erzielt werden konnte. Bezüglich der Wuchs- und Fruchtmerkmale ist mit Ausnahme der Fruchtbare und -form die Variation der Sorten sehr gering. Versuche von Gruber (1942, unveröff.) zur Steigerung der Fruchtgrösse brachten guten Erfolg, mussten jedoch später wieder aufgegeben werden. Versuche von Kautsch (1944, unveröff.) das gleiche Ziel durch Polyploidisierung (Colchizin) zu erreichen, führten zwar zu einer Steigerung der Fruchtgrösse und Winterfestigkeit in tetraploiden Selektionen (s. a. Kluge 1954, 1955), gaben jedoch im Leistungsvergleich mit diploiden Selektionen nur die halbe Ertragsleistung (Bauer 1958-50, unveröff.). Die optimal erreichbare Fruchtgrösse bei tetraploiden Monatserdbeeren, wird nur unter günstigsten Bedingungen bei der Bestäubung realisiert, da — vermutlich infolge Polyvalentbildung — nur wenig funktionsfähiger Pollen zur Ausbildung kommt.

Kreuzungsmöglichkeiten zwischen den Arten und Fertilitäts- und Wachstumsverhältnisse bei den F_1 Hybriden.

Zur Klärung der systematischen und genetischen Verwandtschaft unter den Arten liegen zahlreiche Untersuchungen vor, für die Darrow (1937) eine Zusammenfassung der älteren Literatur und Scott (1951), Kluge (1959) Ergänzungen hierzu gegeben haben. Danach führen Kreuzungen zwischen Spezies gleicher Chromosomengruppen mit wenigen Ausnahmen zu normalem Samen- und Fruchtansatz und die F_1 ist fertil. Kreuzungen zwichen Arten unterschiedlicher Polyploidstufen dagegen bleiben entweder ohne Fruchtansatz oder es kommen nur wenig, vielfach schlecht keimende Samen zur Entwicklung. Die F_1 Pflanzen, sofern sie hybridogenen Ursprungs sind und blühen, sind im allgemeinen selbstungs- und kreuzungssteril (ohne Fruchtansatz). Während im meiotischen Verhalten homoploider Kombinationen im allgemeinen keine Störungen auftreten, führt bei den F_1 Bastarden heteroploider Kombinationen Polyvalentbildung in der Regel zur Funktionsunfähigkeit der Gone. Im Gegensatz zu den Verhältnissen bei homoploiden Kombinationen, wo die züchterische Nutzung nächstverwandter Wildarten ohne Schwierigkeiten möglich ist, wie Powers (1944, 1945, 1954) bei Kreuzungen zwischen *F. ananassa*-Sorten und *F. ovalis* Lehm (Rydb.) zeigen konnte, erschienen heteroploide Kombinationen

nach den Befunden älterer Untersuchungen als Zuchtweg wenig aussichtsreich. Erst im letzten Jahrzehnt eröffneten sich positive Aussichten für die Herstellung neuartiger Bastard-Kulturformen durch die Nutzung des Vorkommens unreduzierter Gone bei den F_1-Bastarden (Scott 1951). Nach eigenen, in den Jahren 1949/51 durchgeführten Kombinationsversuchen zwischen einer grösseren Zahl von *F. ananassa*-Sorten und *F. vesca semperflorens* (4 ×), schwankt die Häufigkeit des Auftretens unreduzierter Gone sowohl innerhalb des Bastardmaterials der gleichen Kombination als auch in Abhängigkeit vom speziell gewählten *F. ananassa*-Elter ausserordentlich stark. Am meisten kommen Typen mit Einzelnüsschenansatz bei freier Abblüte vor. Relativ selten und meist nur in Verbindung mit bestimmten *F. ananassa*-Eltern steigt der Nüsschenansatz auf 5-10 im Mittel der Blüten des Fruchtstabes. Bezüglich der Fruchtausbildung kommen bis nahezu normalfrüchtige Bastardtypen vor. Das Vorkommen « normalfertiler » hexaploider F_1 Bastarde, wie Kluge (1959) berichtet, konnte in unseren Versuchen bei gleichartigen Kombinationen nicht beobachtet werden.

Gegenüber dem Verhalten der Selbstungs- und Kreuzungsnachkommenschaften der Stammeltern zeigen Hybridnachkommenschaften eine wesentlich gesteigerte Varianz bezüglich Wuchsstärke und Typenmannigfaltigkeit. Häufig treten Sämlinge mit Riesenwuchs bzw. Zwergwuchs in allen Kombinationen auf, z. T. in Verbindung mit dem Verlust der Blühfähigkeit. Die lebensfähigen Bastardpflanzen sind im wesentlichen wüchsiger als die Stammeltern, das macht sich vor allem in der extremstarken Ausläuferbildung bemerkbar. Die Winterhärte ist in der Regel erhöht, die Spätfrostresistenz dagegen so gering wie bei dem frühblühenden frostempfindlichen Vesca-Elter. In Kombinationen bestimmter *F. ananassa*-Sorten sind zwei verschiedene, vermutlich genetisch bedingte Anomalien im Wuchsverhalten der Hybriden zu beobachten.

1) extrem axialverzweigte, selten blühende Wuchstypen, die meist ausläuferfrei bleiben und deren Blattspreiten bei höherer Temperatur stark reduziert werden. Sie werden im folgenden als Reduktionstypen (R) bezeichnet.

2) normal einachsige, rankende Sämlingstypen, bei denen, falls im Spätherbst oder Frühjahr tiefere Kulturtemperaturen wirksam sind, Störungen in der Jungblattentwicklung auftreten. Es liegt nahe, sie mit frühjahrsbunten Sämlingstypen zu identifizieren. Im Gegensatz zu den Verhältnissen der 8 × -Sorten, bei denen die Symptome der Frühjahrsbuntheit von Sorte zu Sorte stark variiert, zeigen Hybriden unabhängig von der speziellen Sortenbeteiligung gleichartige Symp-

tome, bei denen die randständige Ausbildung sektorialen transit-yellows vorherrscht.

Von 23 bisher (1949/52, 1955/59) in Kombinationen mit *F. v. semp.* (4 ×) untersuchten *F. ananassa*-Sorten zeigten sieben 50 % und mehr Redtypen in ihren Hybridnachkommenschaften, die weiblichen Sorten : Ernst Preuss (80 %), Früheste der Frühen, Hilgenstein, Mieze Schindler je 50 %, die zwittrigen Sorten : Panther und Sieger gleichfalls 50 %. Keine dieser Sorten wies im Anteil der Normalhybriden Symptomträger für Frühjahrbuntheit auf. Bei der Sorte Climax, die in die Untersuchungen allerdings nur in 2 Hybriden einbezogen war, die sich beide als Redtypen entwickelten, kommen bei grösserem Sämlingsmaterial nach Wills (mündl. Mitt.) nur 50 % Redtypen zur Ausbildung. Im Gegensatz zu den oben erwähnten Sorten zeigt die andere Hälfte der Hybriden Frühjahrsbuntheit.

Von den 16 Red-freien übrigen Sorten wiesen 14 einen verschieden hohen Anteil an « buntwerdenden » Hybriden auf. Die Prozentsätze variieren erheblich : Braunschweig (86 %), Mdme. Moutot Herkunft B (71 %), Amazone (69 %), Mme. Moutot Herk. F (50 %), Eva Machcrauch (33 %), Hansa, Jukunda, Osterfee (25 %), Regina und Frühernte (12 %), die weiblichen Sorten Mohrenkopf (75 %) und Deutsch-Memelland (25 %).

Frei von Red-Typen und Frühjahrsbuntheitträgern blieben nur Hybriden der Sorten Rotkäppchen und Sylvia, jedoch mit jeweils höherem Anteil an kurzlebigen Zwergtypen (50 bzw. 33 %).

Aus diesen Befunden, die das Ergebnis von Untersuchungen sind, die im Jahre 1949 begonnen (Kombination von 12 Sorten) und 1955/56 unter günstigeren Arbeitsbedingungen mit 11 weiteren Sorten bis 1959 fortgesetzt wurden, lassen sich Testmöglichkeiten für *F. ananassa*-Sorten ableiten. Sie erscheinen besonders wertvoll bezüglich ihrer Erbkonstitution für Frühjahrsbuntheit, die innerhalb eines Jahres abgeschlossen werden kann, wenn nach der Ernte (Frühjahrskreuzung im Gewächshaus) und Sommeraussaat, das Hybridmaterial relativ kühl unter Glas überwintert wird (Selektion im Blattdurchtrieb nach Überwinterung).

Zur Vervollständigung der Charakterisierung der in der F_1 vorkommenden Wuchstypen sei noch auf das Vorkommen matrokliner Sämlinge hingeweisen, deren eventuelle Bedeutung für die Homozygotiezüchtung auf reiner *F. ananassa*-Basis an anderer Stelle besonders hingewiesen wird.

3. — Züchterische Nutzungsmöglichkeiten bei F_1 - Hybriden heteroploider Kombinationen

Voraussetzung für den Aufbau einer Polyploidiezüchtung bei *Fragaria* ist die Entwicklung fruchtbildender, d. h. fertiler Bastarde. F_2-Generationen wurden bisher nur aus den selten vorkommenden schwach bis teilfertilen F_1-Bastarden erhalten, — in Russland aus heptaploiden Selektionen der Kombination *F. moschata-ananassa* (Federova 1946b), Dogadkino 1941, Smoljaninova (1946), — in den USA aus hexaploiden Selektionen der Kombination *F. ananassa-vesca* (4 ×) (Scott 1951), — in Deutschland aus entsprechenden Kombinationen mit *F. vesca semperflorens* (4 ×) (Bauer 1959). Sowohl nach Selbstung (Federova 1946b) oder freier Abblüte (Scott 1951, Bauer 1959) als auch nach Rückkreuzung mit *F. ananassa* (Scott 1951) entstehen Bastarde verschieden hoher Polyploidstufen. Unter diesen findet man meistens nur bei wenigen, bestimmten Chromosomensätzen normal fertile Bastardtypen mit ausgeglichenen Merkmalskombinationen der beiden Ursprungsausgangselter. Sie können eine Grundlage für züchterische Neuentwicklungen auf Hybridbasis bilden.

Bei der Kombination *F. moschata-ananassa* erhielt Federova (1946b) aus einem teilfertilen F_1-Bastard (7 ×) durch Selbstung eine Polyploidserie von 2n=42, 56, 63, 77, 84 und 98. Normale Fertilität war nur im 63-chromosomigen Bastard ausgebildet, während bei allen übrigen Sterilität vorherrschte. Ihre Meiosis-Untersuchungen zeigten, dass in dem 9 × Sämling Bivalentbildung, in den sterilen übrigen Polyploidstufen dagegen Multivalentbildung vorherrschte. Der Grad der Sterilität erwies sich korreliert mit der Zunahme der Häufigkeit der Multivalentbildungen.

In der von Scott (1951) untersuchten *F. ananassa-vesca* (4 ×)-Kombination blieben die in Selbstungen hexaplo der F_1-Bastarde erhaltenen wenigen Samen ohne Keimung ,dagegen konnten bei Rückkreuzungen mit *F. ananassa* Sämlinge erhalten werden. Bei Verwendung des Bastardes als Mutter erhielt Scott 49- und 70-chromosomige, in reziproker Durchführung zusätzlich 77- und 56-chromosomige Pflanzen, von denen letztere als Fehlbestäubungen vermutet werden (matroklin). Unter den Hybriden zeigten nur die 70-chromosomigen Typen normale Fertilität, die mit einer Häufigkeit von 10 % im Sämlingsmaterial (60), auftrat. Die 49-chromosomigen Typen waren steril bis schwach fertil, die einzige 77 chromosomige teilfertil. Während die fertilen Dekaploiden das Kombinationsergebnis unreduzierter Bastardgone (6 ×) mit normalen *F. ananassa*-Gameten (4 ×) sind, dürfte die 11x-Pflanze

nach Scott (1951) aus der Verbindung eines unreduzierten 8×-*F. ananassa*-Gameten mit einem reduzierten hexaploiden Gameten (3×) und die heptaploiden Typen aus der Kombination reduzierter Bastardgameten mit normalen *F. ananassa*-Gameten entstanden sein. Meiosisuntersuchungen an Sämlingen der verschiedenen Polyploidstufen zeigten bei den sterilen bis teilfertilen Gruppen sehr starke Unregelmässigkeiten im Meiosisablauf, beginnend in der Diakinese über alle Folgestadien bis zur Tetradenbildung. Bei den fertilen Dekaploiden dagegen zeigten sich in der Regel 35 Bivalente in der Metaphase I. In der Metaphase II waren gelegentlich Diaden und unreduzierte Zellen unter den Tetraden. Kombinationen zwischen den Dekaploiden ergaben neben blütenlosen Pflanzen einen hohen Prozentsatz fertiler Bastarde gleicher Chromosomenzahl.

In eigenen, ab 1949 laufenden Untersuchungen wurden in Kombinationen mehrer *F. ananassa*-Sorten mit *F. vesca semperflorens* (4×) bei Verwendung bestimmter 8×-Elter (Regina, Frühernte, Eva Macherauch, Mieze Schindler) neben vollsterilen ein höherer Prozentsatz partiell fertiler hexaploider Bastarde erhalten. Aus dem Nüsschenansatz dieser Bastarde konnten nach freier Abblüte im Feldbestand (Mischpflanzung mit *F. ananassa*, *F. vesca-semperflorens* (4× u. 2×), *F. moschata*, *F. vesca* L.) neben vollsterilen F_2 Pflanzen schwach fertile (2n = 42, 49, 63, 112), teilfertile (2n = 56, 77) und vollfertile (2n= 70 in über 50 Beispielen) Bastardtypen ausgelesen werden.

Dekaploide F. ananassa/vesca semperflorens-Bastarde

In den Dekaploiden ist in der Regel nach unseren Beobachtungen (ab 1952) die Bastardwüchsigkeit der F_1-Ausgangspflanzen erhalten. Ausserdem ist gegenüber der Winterempfindlichkeit der Stammarten eine Überlegenheit bezüglich Winterhärte festzustellen. Bei Temperaturen bis —20°C im Jahr 1953-54 blieb die Mehrzahl der dekaploiden Klonungen ungeschädigt, während gleichzeitig in Beobachtung stehende Nachkommenschaften matrokliner Sämlingstypen der *F. ananassa*-Stammsorten fast 100 %ig auswinterten. Wirtschaftlicht wertvoll erscheint die Ausbildung sehr guter Kelchlöslichkeit in Selektionen aus Bastardnachkommenschaften einiger 8×-Elter (Eva Macherauch, Jukunda u.a.). *Fragaria vesca*-Arom tritt in Selektionen einiger Kombinationen häufiger auf (Osterfee, Amazone) meist jedoch in Verbindung mit Weichfleischigkeit. Hinsichtlich der äusseren und inneren Fruchtfärbung kommen alle Varianten von hellrot bis dunkelrot vor wie in den oktoploiden Ausgangssorten. Zur Orientierung über die Fruchtgrösse und die Ertragsverhältnisse bei Dekaploiden mag die gegebene Übersicht dienen. Die Ertragszusammenstellung bezieht sich auf Werte aus einer Klein-

vermehrung (5 bzw. 10 Pflanzen je Klon) im zweijährigen Standjahr (1955, Voldagsen, Hannover). Die Dekaploiden sind ihrer Abstammung nach gruppiert und in Vergleich gesetzt mit den Ertragsverhältnissen ihres *F. ananassa*-Stammelters. Die Ernte erfolgte getrennt für jeden Fruchtstand nach Primär-, Sekundär- und Tertiärfrüchten (I, II, III), so dass die Fruchtgrössenverhältnisse auch in Abhängigkeit von der Insertion quantitativ zu beurteilen sind. Mittlere Zahlen der Blütenstände je Pflanze und mittlere Fruchtzahl je Blütenstand ergänzen die Charakterisierung der Ertragsbildung und gewähren zusätzlich Einblick in das Akklimatisationsverhalten der Bastardtypen im Vergleich zum *F. ananassa*-Elter.

Weder im Gesamtmittel, noch in der Aufgliederung nach unterschiedlicher Insertion erreichen die dekaploiden Zuchtstufen im allgemeinen die Werte ihrer 8 ×-Stammelter. Nur vereinzelt finden sich Typen, die sie in der Fruchtgrösse erreichen oder übertreffen. Noch ausgeprägter gilt dies für die Ertragsleistung (ø g je Pflanze). Im Wert der Blütenstandszahl je Pflanze zeigen 10 ×-Typen eine starke Variation, die auf wesentliche Unterschiede im Akklimatisiationsverhalten schliessen lässt. Nur wenige Selektionen zeigen eine gleichgünstige Adaption wie die Stammeltern (hoher Mittelwert für Zahl der Blütenstände je Pflanze). Bezüglich der Früchtezahl zeigen dekaploide Bastarde vielfach erhöhte Werte genüber ihren Stammeltern, besonders in weiblichen Typen.

Im Vergleich der verschiedenen Herkunftsgruppen weisen Dekaploide bestimmter Eltersorten relativ günstigere Ertragsverhältnisse auf. Bei Nachkommenschaften der Sorte Eva Macherauch z. B. zeigen die Dekaploiden Selektionen ein günstigeres Akklimatisationsverhalten (Zahl der Blütenstände je Pflanze und der Früchte je Blütenstand erhöht) und demzufolge höhere Ertragswerte als Dekaploide aus anderen Sorten. Ähnliches gilt für die 10 ×-Typen der Sorte Hilgenstein.

Unter den Dekaploiden Nachkommenschaften aus einem weiblichen Sämling (Falschlieferung der Sorte Eva Macherauch) zeigten Selektionen eines bestimmten F_1-Bastardes (Nachkommenschaft 559) auch im Vergleich zu Nachkommenschaften von Geschwistern einheitlich günstigere Ertragsverhältnisse, so dass sowohl von Stammelter zu Stammelter als auch innerhalb der verschiedenen Bastarde der gleichen Sorte mit grossen Zuchtwertunterschieden gerechnet werden muss. Unter den aufgeführten 56 dekaploiden Beispielen aus 11 verschiedenen Sorten finden sich 6, die ihrem 8 × -Ursprungselter in der Fruchtgrösse und 7, die ihn in der Ertragsleistung übertreffen.

Für die Entwicklung von *F. ananassa/vesca*-Kulturtypen auf dekap oider Basis bestehen somit relativ günstige Vorraussetzungen. Ausser

den bereits angeführten Vorteilen (Kelchlöslichkeit, Aroma, Winterhärte und Starkwüchsigkeit) würde die Nutzung grundsätzlich neue Möglichkeiten für die Überwindung der durch Virosen gestellten Abbauprobleme bieten können, wie folgende Ausführungen zeigen mögen.

Künstliche Infektionen mit den in Westdeutschland häufig vorkommenden Virosekomplex (Virus I Mottle bis curly dwarf virus) veinbanding Virus V) ergaben, dass hexaploide F_1-Bastarde mässig virussensibler Sorten (z. B. Sieger, Ostrefee, Hansa) mittlere bis extreme Sensibilität, solche toleranter Sorten (z.B. Mieze Schindler) geschwächte bis volle Toleranz aufweisen. Die Sensilibität äussert sich in starker Rückläufigkeit der Wuchsstärke (Rankenverkürzung) bis völliger Hemmung in Verbindung mit Aufgliederung spezifischer Befallssymptome, die auch unter Freilandbedingungen sicher erkannt werden können. Der spezifische Reaktionstyp ist auf 10×-Nachkommenschaften erblich übertragbar und Selbstungsnachkommenschaften solcher dekaploider Bastardtypen zeigten die spezifischen Befallssymptome des Elters nach künstlicher Infektion auch schon im jugendlichen Sämlingsstadium. Für das Befallsverhalten gegenüber dem persistenten Virus II ergaben sich analoge Reaktionsverschiebungen bei den Bastarden als Folge der Einkreuzung der hochsensiblen *F. vesca semperflorens*. Kombinierte Virusinfektionen (Virus I + Virus II + Virus V) führten bei der Mehrzahl der geprüften Selektionen zu kurzfristigem Absterben der Topfpflanzen.

In dekaploiden Selektionen bestimmter Sorten stehen demnach Zuchtbasen für Kulturtypen mit soweit erhöhter Virose-Empfindlichkeit zur Verfügung, dass ihr Gesundheitszustand ohne spezielle Gewächshausteste im Freiland überprüft und kontrolliert werden könnte. Wenn auch die Entwicklung solch hochsensibler Sortentypen für den praktischen Anbau zunächst nur für vektorfreie Anbau-Areale sinnvoll erscheint, mag — bei fortschreitender Gesundung heute noch virusverseuchter Gebiete im Rahmen der Sortenvermehrung in nur virusfreien Herkünften — eine auf Virussensibilität ausgerichtete Züchtung auf längere Sicht der bisher propagierten Auslese virustoleranter Sortentypen vorzuziehen sein. Für Deutschland, wo der Hauptvektor nur isoliert als Dauersiedler auftritt (Weinbaudistrikte, Schuch 1955) und der nordöstlichen Nachbarländer würden hochsensible, sich selbst bereinigende Kulturformen wesentliche Vorteile bieten, vor allem gegenüber der von westlichen Nachbarländern her bestehenden Gefahr sommerlicher Spontaninfektionen, insonderheit bezüglich des Virus II, das derzeit in Deutschland noch fehlt (Bauer, 1958. Massen 1959).

Für die Überwindung der bei dekaploiden Zuchtstufen gehäuft auftretenden geringen Festfleischigkeit und Mehltauresistenz schlägt

Harland (1957) die Verwendung festfleischiger und mehltauresistenter 8×-Kreuzungspartner vor. In den wenigen bisher von uns vorgenommenen Nachkommenschaftprüfungen (Selbstung, freie Abblüte in Gewächshaus) zeigten dekaploide Zuchtstufen im Vergleich zum Spaltungsverhalten ihrer 8 ×-Eltern eine sehr eingeschränkte Variationsbreite in Wuchs- und Fruchtmerkmalen und es fehlten Inzuchteffekte in den dekaploiden Sämlingstypen. Der hohe Prozentsatz von im Eltertyp ausgebildeten Sämlingen lässt erwarten, dass Möglichkeiten der Erhaltungszucht über Samen gegeben sein dürften. Damit könnten die bisher durch viröse Degeneration bestehenden Schwierigkeiten für die langfristige Erhaltung von Sorten sich am einfachsten überwinden lassen.

Die eventuelle Anwendbarkeit anderer Zuchtmethoden als der bereits besprochenen 8 ×-*ananassa* / 4 ×-*vesca*-Kombination mit nachfolgender Rückkreuzung (oder fr. Abblüte) der F_1-Bastarde mit 8 ×-*ananassa* untersucht Harland (1957) in Manchester / G.-B., wobei 3 Wege geprüft werden :

1) Herstellung dekaploider Hybridtypen durch Colchizinbehandlung pentaploider Sämlinge aus 2 ×-*vesca* × 8 ×-*ananassa*-Kombinationen.

2) Im Falle partieller Fertilität der 5 ×-F^1-Bastarde — die nach Harland auf dem Vorkommen doppelt unreduzierter Gameton (10 ×) beruht — wird eine Kreuzung mit 4 ×-*vesca* versucht und durch Rückkreuzung der zu erwartenden 12 ×-Bastarde mit 8 ×*ananassa* bei Anwesenheit unreduzierter Gameton das Entstehen von 10 ×-Typen erhofft.

3) Kreuzung polyploidisierter 8 ×-Sorten (16 ×) mit 4 ×-*vesca*. Bisher erzielte 16 ×-*ananassa*-Sämlinge (Western Queen (1), Huxley SL (1) gaben nach Kreuzung mit 4 ×-*vesca*-Sorten z.T. guten Samenansatz. Günstige Aussichten für die Entwicklung weitgehend « homozygoter » Hybridtypen dürften sich nur über die Polyploidisierung pentaploider 2 ×-*vesca* × 8 ×-*ananassa*-Hybriden ergeben, in denen das *F. ananassa*-Genom zunächst im reduzierten, nach Colchizinbehandlung im autodiploiden Aufspaltungstyp wirksam sein kann.

Wieweit durch Polyvalentbildung Fertilitätsstörungen vorkommen können, ist noch ungeklärt. Ein von Nilson u. Johannson (1944) durch Colchizinbehandlung hexaploider 8 ×-*ananassa* × 4 ×-*vesca*-Bastard polyploidisierter 84-chromosomiger Hybridtyp war steril.

Nutzungsmöglichkeiten anderer Polyploidiestufen

Über die Aufnahme von Versuchen zur Entwicklung von *F. ananassa-vesca*-Kombinationen auf oktoploider Zuchtbasis wird von Harland (1957), über Selektionsmöglichkeiten auf hexaploider Basis von Kluge (1959) berichtet. Zur Zeit liegen noch keine positiven Befunde

über züchterische Nutzungsmöglichkeiten dieser Polyploidstufen vor.

Einige Untersuchungen über das Verhalten von Nachkommenschaften (freie Abblüte) einiger relativ gut fertiler Hybriden anderer Polyploidstufen der F_2-Nachkommenschaften hexaploider *F. ananassa vesca* (4 ×-Hybriden werden seit 1956 durchgefürht.

In der Nachkommenschaft eines 14-ploiden Hybriden mit vorherrschendem vesca-Habitus traten neben vollsterilen nur einige schwachfertile Sämlingstypen auf. Ihre Polyploidieverhältnisse sind noch nicht untersucht.

In der F_3 Nachkommenschaft eines fast normal fertilen, gut kelchlösenden heptaploiden Hybriden der Kombination Eva Macherauch - *vesca semperflorens* (4 ×) ergaben sich jedoch neben sterilen und teilfertilen Hybridtypen eine prozentual hohe Quote vollfertiler Sämlinge, die im Wuchsverhalten, in den Fruchteigenschaften weitgehend übereinstimmten. Im Gegensatz zum schwachwüchsigen und kleinfrüchtigen F_2-Bastard zeigen sie extreme Bastardwüchsigkeit und sind im Gegensatz zum Heptaploiden Eltertyp voll selbstfertil. Ihrem Habitus und ihrer Samengrösse nach dürften dekaploide Typen vorliegen, die Chromosomenverhältnisse sind jedoch noch nicht überprüft. Alle Selektionen (16 aus 285) zeigten kräftige Vesca-Aroma kombiniert mit voll ausgebildeter Kelchlöslichkeit unabhängig von der Insertion am Blütenstand, der extrem lang und kräftig ausgebildet ist.

Diese erzielten Ergebnisse lassen erkennen, dass durch heteroploide Kombinationen einer Reihe beachtenswerter Ansätze für die Entwicklung wertvoller und neuartiger Bastard-Kulturformen gegeben sein können, deren züchterische Weiterbearbeitung mit einem geringeren Arbeitsaufwand verbunden sein kann als es z.B. in homoploiden Kombinationen zwischen *F. ananassa*-Sorten und nächstverwandten Arten der Fall ist (z.B. *F. ovalis*: Powers 1954- *F. virginiana* Reid 1955). In einigen wirtschaftlich wichtigen Merkmalen (z.B. Kelchlöslichkeit, Virussensibilität, erbliche Starkwüchsigkeit, Vesca-Aroma) bietet *F. ananassa*/*F. vesca*-Kombinationen züchterisch Nutzungsmöglichkeiten wie sie bisher auf *F. ananassa*-Basis nur vereinzelt vorkommen.

Das zuletzt angeführte Beispiel des Zuchtwertes heptaploider F'_2 Hybriden mag zeigen, dass in dem bisher nur im Rahmen der Grundlagenforschung betriebenen Untersuchungen der Heteropolyploidiezüchtung die züchterischen Möglichkeiten noch viel zu wenig untersucht sind um eine abschliessende Beurteilung in der Frage der Bedeutung der Polyploidiezüchtung für die Entwicklung wertvollerer Kulturformen geben zu können.

Abschliessend sei noch kurz auf die mögliche Bedeutung der Art- und Gattungsbastardierung als Methode zur Herstellung homozygoter *F. ananassa*-Sortentypen eingegangen.

Homozygotie-bzw. Haploidiezüchtung bei F. ananassa.

a. *Matroklinie.*

Innerhalb der Kreuzungsnachkommenschaften aus heteroploiden Kombinationen werden bei Verwendung bestimmter Eltersorten relativ häufig- fertile Sämlinge rein mütterlicher Konstitution erhalten mit muttergleicher Chromosomenzahl (Ichijima 1930, Federova 1934, Darrow 1937a in Zusammenfassung ältere Literatur Schiemann 1943 bei der Kombination 2×-*vesca* × 6×-*moschata*- Hunter 1934-1948 bei 8× -*ananassa* × 2×-*vesca*- Scott 1951 bei 8× *ananassa* × 4×-*vesca*- Kluge 1959, Bauer 1959 bei 8×-*ananassa* × 4×-*vesca semperflorens*). Das Auftreten matrokliner Typen wird vielfach auf Fehler bei Kreuzungen oder Aussaat (Hunter 1934-1948, Scott 1951) zurückgeführt. Das gehäufte Vorkommen bei Verwendung männlich steriler Eltertypen (Bauer 1959, Kluge 1959) auch unter kontrollierten Kreuzungs- und Anzuchtbedingungen wie dies für unsere Untersuchungen zutrifft (Bauer 1959) Gewächshausanzucht, Dauerisolation der Einzelblütenstände, Totalkastration, Pollenspender-Isolation, Einzelblütenbestäubung, Einzelfruchtansatz), dürfte ein Zufallsergebnis ausschliessen. Die Entstehung matrokliner Sämlinge dürfte vielmehr auf die Induktion von Reproduktionsvorgängen in der Eizelle, ohne genetische Beteiligung des Kreuzungspartners zurückzuführen sein. Auf Grund der beobachteten Spaltung gegenüber den verwendeten 8×-Elter — auch in Bezug auf das Geschlecht bei der Verwendung weiblicher 8× -Elter — mag Agamospermie auf der Basis haploider Eizellenpathogenese und nachfolgender Kernrestitution oder Reduplikation (homozygote Nachkommenschaften) vorliegen. Nach den bisherigen Befunden kann nicht entschieden werden, ob beide Möglichkeiten nebeneinander vorkommen oder eine der beiden vorherrscht. Einer dieser Typen (zwittrig, aus 8×-Mieze Schindler « × 4×- *vesca semperflorens* ») wies selbst in Nachkommenschaften aus freier Abblüte eine überraschend hohe Gleichförmigkeit in Fruchtgrösse, Form, Aussen- und Innenfarbe sowie hoher Winterempfindlichkeit auf, wie sie in Selbstungsnachkommenschaften von Sorten nie in diesem Umfang beobachtet werden konnte.

b. *Haploidiezüchtung.*

Nach Harland bieten sich zur Auflösung der heterozygoten Konstitution Möglichkeiten durch die Induktion haploider Typen über Kreuzungen von *F. ananassa* mit artfremden Pollen, der die Weiterentwicklung der Eizellen stimuliert. Kombinationen mit verschiedenen *Poten-*

tilla spezies (vor allem *Potentilla frukticosa* und *Pot. anglica*) ergaben in Versuchen von Harland (1957) Samenansatz in Kombinationen mit *F. vesca* (2×) und *F. ananassa*, aus dem matrokline Sämlinge auch mit reduzierter Chromosomenzahl erwartet werden.

Zusammenfassung

Innerhalb der Arten der Gattung *Fragaria* zeigen Kombinationen zwischen Wildarten und Kulturformen unterschiedlicher Polyploidiestufen im allgemeinen Selbstungs- und Kreuzungssterilität, sodass keine Früchte zur Ausbildung kommen.

In Kombinationen der Gartenerdbeere (8×) mit der Monatserdbeere (4×) ergaben sich Ansatzpunkte für die Herstellung fertiler, neuartiger Bastard-Kulturformen auf dekaploider Basis über Rückkreuzung mit *F. ananassa* unter Nutzung des Vorkommens nichtreduzierter Eizellen in den Fl-Bastarden (×6). Nach unseren Untersuchungen zeigen dekaploide Zuchtstufen bezügich Grösse, Form und Farbe der Früchte gleichhohe Variationsbreite wie die 8×-Ausgangseltern, weisen jedoch in ihren Nachkommenschaften eine wesentliche geringere Spaltungstendenz auf. Züchterisch positiv sind zu werten : Starkwüchsigkeit (fixierte Bastardwüchsigkeit), höhere Winterfestigkeit und Trockenresistenz, ausgeprägte Virose-Empfindlichkeit (Freilandsymptome), gehäuftes Vorkommen von Kelchlöslichkeit und intensivem Vesca-Aroma — negativ dagegen die vorherrschende Weichfleischigkeit.

Im Rahmen der Grundlagenforschung bieten Artkreuzungen :

1. In den echten Bastarden Möglichkeiten für den kurzfristigen und abschliessenden Nachweis des Vorkommens von Genen für die Frühjahrsbuntheit (june yellows) bei *F. ananassa*-Kreuzungseltern.

2. In den auftretenden « Scheinbastarden » (Faux hybrides) Ansatzpunkte für den Aufbau einer Homozygotiezüchtung auf oktoploider *ananassa*-Basis.

Aspects sur la Polyploïdie du Genre Fragaria

Résumé

Parmi les espèces du genre *Fragaria*, les combinaisons entre espèces sauvages et formes cultivées des différentes escales de la polyploïdie montrent, en général, auto- et interstérilité, de manière qu'il n'ait pas des fruits.

Par combinaison du fraisier cultivé (8×) avec la fraise perpétuelle (4×), on a trouvé la possibilité de produire de nouveaux hybrides fertiles cultivés, sur la base décaploïde par recroisement avec *F. ananassa*, en utilisant le phénomène de cellules ovulaires non-réduites existantes dans les Fl-hybrides (6×). Nos essais montrent une étendue de variation des étapes d'amélioration identique aux parents de croisement en ce qui concerne grandeur, forme et couleur des fruits, mais les descendants possèdent une moindre

tendance de disjonction. Les résultats positifs de la sélection sont : vigueur hybride (vigueur hybride fixé), résistance augmentée à l'hiver, résistance à la sécheresse, sensibilité bien développée aux viroses (symptôme de pleine campagne), souvent le détachement du calice et un arôme de vesca — tandis que le caractère de pulpe molle est négatif.

Dans le cadre de recherches de base (fondamentales), les croisements interspécifiques offrent :

1. Pour les vrais hybrides, la possibilité d'une preuve définitive, et à courte échéance, de l'existence des gènes pour la panachure en juin (June yellows) chez les parents de croisement *F. ananassa*.

2. Pour les « faux hybrides », possibilité d'établir une sélection de homozygotes sur la base octoploïde d'*ananassa*.

Aspects of Polyploidy-breeding of the Genus Fragaria

Summary

Among the species of the genus *Fragaria*, combinations of wild species and cultivated forms of different polyploidy-stages generally show auto- and cross-sterility, so that there exists no formation of fruits.

Combinations of the cultivated strawberry (8×) with the *alpina* strawberry (4×) offer the possibility of raising fertile new hybride-cultivated forms on decaploide basis by back-crossing with *F. ananassa*, using the presence of non-reduced egg cells in the F1 hybrides (6×). According to our tests, the decaploide breeding stages show a likely high range of variation as the 8× parents, as far as form, size and colour of the fruits are concerned ; the descendants, however, show a much smaller tendency for segregation. The breeding results are positive for : Hybrid vigour (fixed hybrid vigour), higher winter-hardiness, and resistance to dryness, a well developed sensibility to virus (field symptomes), the phenomen of solubility of the calyx and intensive vesca-aroma. Negative is the soft flesh.

Within the frame of basis research, the hybridisation offers :

1. For the real hybrids, the possibility to prove quickly and definitely the existence of genes for the « June yellows » in the parental forms of *F. ananassa*.

2. For the « false hybrids » (faux hybrides), an initiation for establishing homozygosis-breeding on the basis of octoploide *ananassa*.

Biologie et moyens de lutte de quelques parasites du fraisier

par G. L. Gilles
Comité de Recherches de Fraisier (1)
Assistant au Centre de Recherches de Gorsem (Belgique)
(Directeur : Dr Ir. A. Soenen)

La culture du fraisier occupe en Belgique une place importante puisque l'on estime à environ 3000 Ha la surface réservée à cette culture. Dans le cadre du Comité de Recherches du Fraisier, subsidié par l'IRSIA, nous nous consacrons depuis 1957 à l'étude des principaux parasites animaux et végétaux sur fraisiers. Cette étude est essentiellement d'ordre pratique : mettre au point une méthode de lutte efficace et économique, ce qui suppose naturellement une connaissance suffisante de la biologie des parasites envisagés. Nos efforts tendent également à mettre au point un système d'avertissements qui permettrait d'indiquer aux fraisiéristes les moments les plus propices à l'application des traitements antiparasitaires. Parmi les parasites étudiés jusqu'à présent, nous en retiendrons trois qui causent des dégâts souvent graves dans les fraisières belges : Oïdium, Tarsonème et Botrytis

1. — **Sphaerotheca humuli** (DC) **Burr**
Oïdium du fraisier

De nombreux essais et observations effectués au cours des dernières années nous permettent de poser le problème de l'oïdium sur fraisier de la façon suivante :

— L'expérience a montré que les résultats des traitements fongicides sont beaucoup meilleurs lorsqu'on intervient dès les premières infections. Il est donc nécessaire de bien connaître le mode d'hibernation du cryptogame et les agents responsables des premières infections de façon à pouvoir suivre le déroulement de l'infection primaire. Les conditions climatiques nécessaires à la réussite des infections doivent également être bien connues.

(1) Recherches subsidiées par l'Institut pour l'Encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture. (IRSIA).

— Une fois la première infection déclenchée et enrayée par un traitement fongicide, l'application des traitements suivants dépendra de trois facteurs principaux :

1) l'établissement de conditions favorables à de nouvelles infections, conditions essentiellement d'ordre climatique régissant la sporulation et les vols de spores, ainsi que la réussite des infections.

2) la formation de nouvelles feuilles, organes sensibles à protéger. Ceci implique la connaissance, d'une part du stade de développement à partir duquel une feuille est susceptible d'être infectée, d'autre part, du stade de développement à partir duquel cette feuille sera protégée par un traitement fongicide.

3) L'action résiduelle des fongicides recouvrant les organes ayant déjà reçu un traitement, cette action dépendant surtout de l'accroissement de l'organe envisagé et des précipitations.

— En présence d'une infection, il est important de déterminer le temps dont on dispose à partir du moment de l'inoculation pour enrayer l'infection par un traitement fongicide. Si ce temps est suffisamment long, il sera possible d'émettre des avertissements pour des traitements en « stop-spraying ». Sinon, il faudra recourir aux traitements préventifs à intervalles réguliers.

— La lutte proprement dite pose des problèmes tels que l'efficacité comparative de différents fongicides, la meilleure méthode et époque d'application, les résidus sur fruits mûrs.

La réponse aux différentes questions posées ci-dessus permettra de mettre au point une méthode de lutte scientifiquement la meilleure et permettant donc un contrôle efficace et le plus économique possible de la maladie.

La présente communication n'a pas la prétention d'apporter une réponse définitive à toutes les questions posées et l'expérimentation se poursuit.

Les résultats des premières expériences permettent cependant déjà des conclusions intéressantes.

A. — Hibernation du cryptogame et organes de propagation des premières infections

La littérature consultée fait très peu mention du cycle biologique de *Sphaerotheca humuli* sur fraisiers. Comme il s'agit de la famille des Erysiphacées, on peut normalement s'attendre au cycle suivant : mycélium avec spores, formation de périthèces en fin de saison, ascospores-

mycélium. Il se peut également que le champignon hiverne sous forme de mycélium et (ou) de spores.

Nous avons suivi pendant plusieurs saisons la formation et l'évolution des périthèces sur plusieurs variétés de fraisiers. Il faut tout d'abord remarquer que certaines variétés très sensibles telles que la Pillnitz p. ex. ne forment pas de périthèces alors que la Souvenir de Charles Machiroux et la Jucunda en formentré gulièrement. Malgré une observation attentive et poursuivie jusqu'au printemps suivant (début juin), nous n'avons jamais observé d'émission caractéristique d'ascospores ni même de formation d'asques bien différenciés. Nous en concluons que les périthèces ne jouent aucun rôle dans la propagation du cryptogame. D'autre part, nous n'avons que très rarement constaté la présence de spores au cours de l'hiver sur des feuilles atteintes au cours de la saison précédente mais ces feuilles renferment régulièrement du mycélium, ce qui est difficilement identifiable. Bien que jusqu'à présent nous n'ayons pas pu en apporter la preuve irréfutable, tout porte à croire que le cryptogame hiverne dans les feuilles atteintes au cours de la saison précédente, sous forme de mycélium reprenant son activité dès que les conditions climatiques sont favorables (au cours du mois de mai).

B. Conditions climatiques d'infection

Afin de disposer d'un matériel suffisamment souple, l'étude des conditions climatiques permettant la réussite des infections a été effectuée sur plantes en pots. Des feuilles de plantes de la variété Deutsch Evern, au stade jeune (dans les 3 jours suivant le déploiement), ont été infectées artificiellement et les plantes ont été placées dans des conditions de température différentes (températures constantes), l'humidité non réglable étant maintenue assez élevée et soigneusement notée.

Le tableau I ci-dessous donne les résultats obtenus.

L'examen de ce tableau permet les déductions suivantes.

A température constante et pour une humidité relative non inférieure à 70-80 % (sauf pour 30°), les infections réussissent très bien à partir de ± 17°C jusqu'à une limite supérieure de moins de 30°C.

Les conditions les plus favorables paraissent se situer entre 20 et 26°C et pour ces températures, la durée d'incubation est de 6 à 7 jours. A noter qu'à la température constante de 20°C, une observation macroscopique très attentive permet déjà de déceler la formation d'un léger duvet blanc à partir du 5e jour.

NB.— En nature, les premières infections sont généralement observées lorsque la température diurne atteint au moins 20°C pendant

plusieurs jours. Une période de pluie ou des nuits très froides voisines ou inférieures à 5°C entravent l'apparition des premières taches. En juillet 1959, où l'humidité relative a été extrêmement basse, l'infection a été stoppée, mais a repris de plus belle après les pluies de fin juillet. Il semble donc qu'en plus d'une température suffisante, il faut une humidité relative suffisamment élevée. L'étude de ces conditions d'infection est actuellement poursuivie, notamment avec des températures variables, voisines des conditions naturelles.

C. — Évolution phénologique du fraisier

Tableau 1

Influence de la température sur l'infection et la durée d'incubation de Sphaerotheca humuli

Température	Variations de température	Limites de variations de l'humidité relative	Résultats
5°	±1°	90-97 %	pas d'infection
8°	±0.5°	± 95 %	pas d'infection
12°	±1°	90-95 %	pas d'infection
13°	±2°	80-95 %	pas d'infection
14°	±1°	90-95 %	infection partielle après 9 jours
16°	±0,5°	80-90 %	pas d'infection
17°	±1°	80-95 %	inf. part. après 7 j. inf. totale après 8 j.
20°	±2°	90-100 %	Inf. totale après 7 j.
22°	±1°	80-95 %	pas d'infection
22°	±1°	90-97 %	pas d'infection
23°	±1°	80-90 %	inf. part après 6 j. inf. totale après 7 j.
25°	±3°	70-90 %	pas d'infection
26°	±1°	90-95 %	inf. part après 6j. inf. tot. après 7j.
30°	±1°	60-80 %	pas d'infection après 7 j.

Il est intéressant de suivre la formation de nouvelles feuilles au cours de la période d'infections possibles, car il s'agit là d'organes pour lesquels les traitements fongicides précédents ont été sans effet et qu'il faut donc protéger au fur et à mesure de leur formation.

Dix plantes de deux variétés différentes, Pillnitz et Souvenir de Charles Machiroux, ont été observées de 5 en 5 jours au cours de la saison 1959 et nous avons noté chaque fois les nouvelles feuilles formées.

Le tableau II donne les résultats obtenus :

Tableau II

Formation de nouvelles feuilles de fraisier

Dates	Pillnitz	Souvenir de Charles Machiroux
15-V	51	34
20	29	23
25	34	28
30	23	19
5-VI	34	22
10	26	21
15	9	2
20	10	9
25	9	6
30	9	3
6-VII	39	13
10	37	24
15	16	7
20	10	3
25	9	7
30	29	10

Comme on peut le constater, ces deux variétés sensibles forment continuellement de nouvelles feuilles au cours de la période envisagée. Il est probable que cette formation de feuilles se prolonge au moins jusqu'en septembre et se retrouve dans toutes les variétés. La période du 15 au 30-VI correspond à la récolte ; malgré un certain ralentissement, les feuilles continuent à se former. Ce fait constitue un des points les plus importants du problème. Il indique que les traitements antiparasitaires devront être renouvelés à chaque nouvelle infection. En cas de conditions climatiques continuellement favorables, ils devront même être très rapprochés.

D. — Sensibilité et protection des feuilles en fonction de leur stade de développement

Du fait que des nouvelles feuilles se forment continuellement, il y a continuellement présence de tous les stades de développement de ces feuilles. Il est encore intéressant de savoir à partir de quel stade une feuille est infectable et, d'autre part, à partir de quel stade un traitement fongicide est susceptible d'assurer une protection suffisante. Dans ce but, des feuilles à des stades différents (5 par objet) ont été infectées artificiellement, avec ou sans traitement préalable au soufre mouillable

(à 0,5 %) (essai en serre). Les plants ont été placés dans des conditions favorables à l'infection (20°C - 65 à 80 % d'humidité relative). Les stades suivants ont été retenus :

A : petites feuilles complètement fermées et d'une hauteur totale ne dépassant pas 2 cm.

B : feuilles de 4 à 5 cm de hauteur, encore incomplètement déployées. Age : ± 3 jours.

C : feuilles complètement déployées, d'un vert très tendre. Age : 5 à 6 jours (à partir du moment d'apparition dans le cœur du fraisier).

D : feuilles adultes, d'un vert foncé. Age : plus de 12 jours.

Les résultats relevés sur 3 × 5 folioles par objet sont consignés dans le tableau III.

TABLEAU III

Infection et protection de feuilles à différents stades de développement

		5e jour	6e jour	8e jour	11e jour	13e jour
A.		9	15	15	15	15
A.	S.M.	(1)	(3)	2 (8)	6 (7)	13 (1)
B.		14	15	15	15	15
B.	S.M.	0	(4)	6 (6)	6 (7)	12 (2)
C.		8	15	15	15	15
C.	S.M.	(3)	(8)	(8)	(11)	(11)
D.		(3)	(4)	(8)	(12)	(12)
D.	S.M.	0	0	0	0	0

Lorsque les chiffres du tableau III sont mis entre parenthèses, ils indiquent que le mycélium et les conidiophores sont très peu apparents macroscopiquement et réduits à des taches très localisées. Pour les autres chiffres, il s'agit d'atteintes très apparentes avec prolifération abondante du cryptogame sur toute la surface du foliole.

Des déductions très intéressantes peuvent être tirées de cet essai :

— les jeunes feuilles sont sensibles à l'infection dès leur plus jeune âge, au moment où elles sont encore complètement fermées. Au stade adulte, leur sensibilité est beaucoup moindre et la durée d'incubation semble allongée (voir D).

— Le soufre mouillable exerce une action freinante certaine sur le cryptogame surtout pour les feuilles bien déployées (stade C et D) au moment de la pulvérisation. Cette action est même complète

pour le stade D. Pour les autres stades (A et B), l'action freinante du soufre diminue à partir du 8e jour vraisemblablement par suite du développement important de la feuille. On constate aussi un manque de mouillabilité des jeunes feuilles et même le stade C présente des résidus beaucoup moins apparents que le stade D.

Il faut remarquer que les infections indiquées par les chiffres entre parenthèses sont tellement faibles qu'elles passeraient sans doute inaperçues dans la pratique. Notons aussi que l'inoculation (apport mécanique des spores par brossage) a été faite par une méthode un peu brutale par rapport à l'application du fongicide en pulvérisation.

La répétition des essais en serre avec une méthode d'inoculation moins brutale (poudrage de spores) et des essais en nature permettront de préciser ces résultats.

E. Action résiduelle des fongicides

Cette question n'a pas encore été complètement élucidée, surtout en ce qui concerne les précipitations.

Le tableau III ci-dessus apporte un début de réponse à ces problèmes pour le soufre mouillable.

— Pour des feuilles complètement déployées, sans précipitations, on peut dire que la durée d'efficacité du soufre mouillable est égale ou supérieure à 13 jours.

— Des organes en développement sont protégés de façon satisfaisante pendant environ une semaine.

— Les observations dans les conditions naturelles sont encore incomplètes, mais les premiers résultats semblent indiquer une durée d'efficacité supérieure à 10 jours pour des feuilles déployées au moment du traitement.

F. — Mécanisme de l'infection

Cette question est importante en vue de déterminer si les traitements doivent être préventifs, donc réguliers, ou si au contraire on dispose d'assez de temps, après inoculation, pour appliquer la méthode dite « stop-spraying » basée sur des avertissements.

Dans le but de suivre le déroulement de l'infection, des feuilles jeunes bien déployées sont infectées artificiellement et placées dans des conditions favorables à l'infection. A des intervalles donnés à partir du moment de l'inoculation, ces feuilles sont détachées de la plante, décolorées (24 h dans une solution à parties égales de chloroforme, acide acétique glacial et alcool éthylique), puis les spores et le mycélium sont recolorés (30 secondes dans la crysoïdine 1 %, lavage à l'eau distillée, 3 minutes au bleu de méthylène 1 %, lavage à l'eau distillée). L'évo-

lution des spores est suivie au microscope et peut être décrite comme suit :

1) *16 heures après inoculation*

Les spores bien colorées sont parfaitement visibles sur la feuille. La plupart n'ont pas évolué et si l'on relève de très rares spores en germination, le tube germinatif émis ne dépasse jamais 1/4 de la longueur de la spore.

2) *24 heures après inoculation*

Environ 50 % des spores ont émis un tube germinatif dont la longueur est habituellement 1 à 3 fois la longueur de la spore. Aucun indice de pénétration ou de fixation n'est relevé. Le tube germinatif est fin et bien coloré.

3) *48 heures après inoculation*

Les spores ont émis pour la plupart un tube germinatif ayant une longueur de 4 à 5 fois celle de la spore, et même un début de mycélium ramifié.
Une observation très attentive permet de constater l'apparition des premiers conidiophores encore incomplètement formés et bien colorés. Ces conidiophores ne prennent pas toujours naissance sur le mycélium, ce qui semble indiquer que certaines parties échappent à l'observation. Il semble donc que déjà après 48 heures, le cryptogame s'est fixé sur la feuille.

4) *72 heures après inoculation*

Le mycélium a pris une grande extension et certaines spores ont même émis plusieurs tubes germinatifs. Des conidiophores, encore incomplètement développés pour la plupart, se sont formés en grand nombre. On observe même de rares chaînes conidiennes.

5) *96 heures après inoculation*

Le mycélium s'est fortement développé et ramifié. Il est bien coloré, mais paraît anormalement mince, peut-être sous l'effet des traitements de décoloration et recoloration. Le nombre de conidiophores avec chaînes de conidies bien différenciées s'est fortement accru. La liaison entre le mycélium et le conidiophore est plus visible et ne présente pas de particularités spéciales.

Les observations permettent des déductions extrêmement intéressantes Si, macroscopiquement, les taches ne sont visibles que vers le 5^{e} jour au plus tôt, il s'avère que le cryptogame s'est déjà fixé sur la feuille 48 heures après l'inoculation. Il reste à définir clairement jusqu'à quel

stade il est possible de stopper le développement du cryptogame par un traitement fongicide. Si le temps dont on dispose ne dépasse pas 48 heures, la méthode de traitement en « stopspraying » basée sur des avertissements est d'application aléatoire. De nouvelles expériences seront nécessaires pour résoudre ce problème.

Des expériences en nature tendent à prouver que si l'on prévoit avec exactitude la réussite des infections en se basant surtout sur les conditions climatiques, il est possible d'obtenir de très bons résultats en traitant dans les deux jours suivant le début supposé de l'infection (expérimentation en cours).

G. — Essais de lutte en nature

De très nombreux essais de lutte en nature ont été effectués au cours des 4 années écoulées. Reprendre en détail la description de tous ces essais nous entraînerait beaucoup trop loin et nous nous contenterons de noter très succinctement les résultats des deux dernières années.

I. — *Efficacité comparée de différents fongicides*

Les résultats sont consignés dans le tableau IV.

Tableau IV

a) **Résultats de 3 essais en 1958. Pourcentage d'atteinte sur feuilles**

Fongicides	Essai I Var. Jucunda 6 traitem. mai-juin	Essai II Var. Pillnitz 6 traitem. mai-juin	Essai III Var. Macherauch's Frühernte 4 trait. mai-juin
Soufre mouillable 40 gr/are	29,2%	8,2%	1,3%
Karathane 10 gr/are	31%	17,1%	11%
Soufre poudre 200 gr/are	—	—	11,7%
Polysulfure de Baryum 100 gr/are	45,4%	16,0%	8,3%
TMTD + S 30 gr/are	62,3%	—	4,3%
Témoin	69,6%	37,9%	59,7%

b) **Résultats de 2 essais en 1959**

Fongicides	Essai I Var. Macherauch's Frühernte 7 trait. mai-juin-juillet % d'atteinte sur feuilles	Essai II Var. Macherauch's Späternte 6 trait. mai-juin % d'atteinte sur fruits
Soufre mouillable 40 gr/are	0,5%	0,6%
Karathane 10 gr/are	9,8%	4%
Témoin	88,0%	89,3%

Les résultats du tableau IV nous montrent que si les résultats ne sont pas de 100 %, il est souvent possible d'obtenir un très bon contrôle de la maladie. Le soufre mouillable permet en général d'obtenir des résultats meilleurs que le Karathane et le soufre en poudrage. Le polysulfure de baryum et le mélange TMTD + S donnent des résultats inférieurs au soufre mouillable.

II. — *Époque d'application des traitements*

Ce qui précède, en particulier la formation continuelle des nouvelles feuilles, nous permet de conclure qu'il est nécessaire d'appliquer des traitements fongicides à partir des premières infections et de répéter régulièrement les traitements au cours de la saison. Des essais en nature avec des traitements appliqués à des dates et en nombre différents sur des parcelles distinctes confirment cette hypothèse. Nous ne les reproduirons pas ici pour ne pas allonger cet exposé mais les conclusions suivantes s'en dégagent :

— Si l'on applique des traitements (essais avec le soufre mouillable) dès le début des infections possibles, les résultats sont excellents par rapport au témoin (5 à 10 % d'atteinte contre 80-95 %). Dès que l'on cesse les traitements, la situation devient rapidement semblable au témoin.

— Lorsqu'on laisse une forte atteinte s'installer dans une parcelle, il est très difficile de rétablir la situation à moins de traitements répétés à très courts intervalles (3 à 5 jours).

III. *Technique d'application des fongicides*

Dans ce chapitre nous groupons les questions de quantité de fongicide à appliquer par unité de surface, la quantité d'eau nécessaire à une bonne efficacité, le type d'appareil à employer. Ces questions ne sont jusqu'à présent qu'incomplètement résolues.

En 1960, un essai sur Macherauch's Frühernte, avec des quantités de soufre mouillable et d'eau variables par unité de surface, a donné les résultats repris au tableau V (4 traitements entre le 14/5 et le 5/6 ; comptage le 10/6 — appareil nébulisateur à moteur Solo).

Tableau V

Influence de la quantité de fongicide et d'eau par unité de surface

Dose de S.M. et nombre de litres d'eau par are	Pourcentage de folioles atteintes par l'Oïdium	
	Répétition I	Répétition II
25 gr. S.M. / 2 l. eau/are	7,4	18
25 gr. S.M. / 8 l. eau/are	2	3,4
50 gr. S.M. / 2 l. eau/are	16	20,6
50 gr. S.M. / 5 l. eau/are	18,6	18,2
50 gr. S.M. / 8 l. eau/are	6,4	4,4
Témoin	52,0	61,4

Si l'on excepte, dans la répétition I, la parcelle 25 gr/21 légèrement aberrante, on constate que si la quantité de fongicide employée par unité de surface semble de moindre importance, l'emploi d'une quantité d'eau plus élevée améliore assez sensiblement les résultats.

En ce qui concerne le type d'appareil, des analyses chimiques (*) ont montré une meilleure répartition du fongicide entre la face supérieure et la face inférieure des feuilles, avec le nébulisateur à moteur Solo comparativement au pulvérisateur à main, modèle Samdow. Les essais biologiques de confirmation ne sont pas encore terminés.

H. — Résidus de fongicides sur fruits

Du fait que du point de vue biologique, des traitements devraient être appliqués peu de temps avant la récolte, et même entre deux cueillettes, l'étude des effets secondaires et en particulier des taches, résidus et mauvais goût sur fruits, doit faire l'objet d'un travail approfondi. Ce travail est au programme des années à venir.

Conclusions finales

S'il reste encore de nombreux points à éclaircir, l'état d'avancement des recherches permet cependant de retenir les points suivants :

1. Il est très vraisemblable que le cryptogame hiverne sous forme de mycélium reprenant son activité au printemps (mai).

(*) Essais effectués en collaboration avec le Centre de Recherches de Phytopharmacie (IRSIA) de l'Institut Agronomique de Gembloux.

2. Les conditions climatiques favorables à l'infection semblent se situer, d'après des essais à température constante en serre, entre ± 17°C et moins de 30°C, avec une humidité relative assez élevée de préférence.
3. Le fraisier formant continuellement des nouvelles feuilles au cours de la période d'infections possibles, les traitements devront être nombreux et rapprochés en cas de conditions favorables.
4. Des feuilles jeunes et incomplètement déployées sont déjà susceptibles d'être infectées et à ce moment elles sont mal protégées par les traitements fongicides. C'est un élément de plus montrant la nécessité de traitements rapprochés.
5. Sur feuilles bien déployées et en l'absence de précipitations, la durée d'efficacité du soufre mouillable est égale ou supérieure à 13 jours. Sur feuilles en croissance, l'effet résiduel est de l'ordre d'une semaine.
6. 48 heures après inoculation (T° 20°C) les conidiophores commencent à se former, ce qui indiquerait que l'on dispose de très peu de temps pour l'application de traitements en « stop-spraying ».
7. En ce qui concerne la lutte en nature, le soufre mouillable nous a donné en général des résultats supérieurs au soufre en poudre, Karathane, polysulfure de baryum et mélange TMTD + soufre. L'emploi d'une quantité d'eau assez élevée paraît avoir une influence favorable sur l'efficacité des traitements.
8. L'étude des effets secondaires des traitements sur les fruits, en particulier les questions de résidus, taches et goût désagréable sur fruits doivent faire l'objet d'études approfondies.

II. — **Tarsonemus pallidus Banks**
Le tarsonème du fraisier

De très nombreux essais effectués contre cet acarien depuis 1956 nous ont permis de nous faire une idée assez exacte des problèmes posés par la destruction du parasite.

Les dégâts qu'il cause sont surtout préjudiciables par le fait que la population atteint son développement le plus important en juillet-août-septembre. Or, comme on le sait, le fraisier forme ses ébauches florales, qui conditionneront la récolte de l'année suivante,dans le courant du mois d'août ou plus tard pour les variétés tardives. Il est aisé de comprendre qu'un fraisier affaibli par les attaques de l'acarien ne donnera qu'une récolte très faible au cours de la saison suivante.

A. — Position du problème

De très nombreux chercheurs se sont penchés sur le problème. En 1946-53 et 54 déjà, le Professeur Van den Bruel de l'Institut Agronomique de Gembloux, s'est livré à de nombreux essais de lutte en champ. En Allemagne, Pays-Bas, Suisse, France, Angleterre, États-Unis, Canada, pour ne citer que les principaux pays, les chercheurs se sont chaque fois heurtés à un point capital :la destruction à 100 % de la population, car il est notoire qu'avec la plupart des insecticides, la population, même fortement décimée, se reconstitue à plus ou moins longue échéance.

Le but poursuivi est donc à la fois simple et très difficile à obtenir : détruire à 100 % la population d'acariens sur fraisière établie ou, ce qui serait mieux encore, ne repiquer que des plants *absolument indemnes* de tarsonème. Il s'avère en effet qu'une plantation absolument saine ne s'infecte que très lentement alors que des plants paraissant indemnes, mais contenant en réalité un nombre d'individus même très faible, montrent des symptômes d'atteinte parfois l'année même du repiquage, en conditions favorables (cas de 1959 en Belgique).

B. — Étude du cycle biologique

Nous ne reprendrons pas ici les détails de ce cycle biologique qui est bien connu des spécialistes. Wiesmann en Suisse (11) a étudié ce problème de façon remarquable.

La durée d'incubation des œufs en fonction de la température, point important à connaître en vue de déterminer le meilleur moment pour l'application d'un second traitement, se situe entre 5 et 8 jours pour des températures de 16 à 28°C. Quelques essais effectués par nous ont montré que ces données peuvent s'appliquer aux conditions de nos régions. Il nous a donc paru inutile de reprendre l'entièreté du problème et dans nos essais en nature, nous appliquons généralement un second traitement après une semaine environ.

C. — Essais de lutte en nature

Le problème de la destruction d'une population de tarsonèmes sur fraisière établie revêt plusieurs aspects notamment la recherche du meilleur moment d'application des traitements, du meilleur insecticide et de la meilleure technique de traitements (quantité de produit et de litres d'eau, type d'appareil).

1°) Moment d'application des traitements

On peut envisager trois époques pour l'application des traitements :
— Avant la récolte (mars à mai).

— Après la récolte, de juillet à septembre, mais de préférence le plus tôt possible afin d'éviter les dégâts.
— En fin de saison (octobre), au moment où la ponte et la multiplication des individus ont cessé.

a) *Traitements avant récolte*

Plusieurs essais ont été effectués au cours des années passées. Ils présentent un grand danger en ce qui concerne les résidus possibles sur fruits. De plus, on constate en général que ces traitements sont peu efficaces en ce sens que si l'on compare, après la récolte, la population présente dans les parcelles traitées et témoin, on constate peu de différence. Pour ces deux raisons, résidus et manque d'efficacité, ces traitements avant récolte ont été abandonnés d'autant plus que les pulvérisations après récolte et en fin de saison suffisent à obtenir de bons résultats comme nous le verrons plus loin.

b) *Traitements après récolte et efficacité comparative des insecticides*

Après la récolte on dispose de beaucoup plus de latitude, notamment au point de vue sanitaire. Il est impossible de reprendre ici en détail les dizaines d'essais effectués depuis 1956. En présence de la gamme très étendue des insecticides susceptibles de donner des résultats contre cet acarien, nous procédons en général d'abord à des essais en laboratoire de façon à éliminer des essais en nature les produits non efficaces.

Parmi tous les insecticides testés par nous, très peu présentent une efficacité suffisante contre l'acarien. Il est notamment remarquable de constater que les systémiques (p. ex. Systox, Métasystox, Ekatine) ont une efficacité à peu près nulle contre le tarsonème.

Parmi les produits les plus eficaces, nous citerons notamment : Endrine (actuellement interdit en Belgique), Thiodane, Kelthane. Le Parathion et le Lindane émulsion donnent déjà des résultats moins bons. Voici d'ailleurs un extrait représentatif de résultats obtenus lors d'essais en 1958, et en 1959 (cfr. Tableaux I et II page suivante).

Deux produits se détachent au point de vue efficacité : l'Endrine et le Thiodane. On pourrait y ajouter le Kelthane WP mais les résultats ont été décevants en 1959. Il faut également noter que certains produits surtout l'Endrine et même le Thiodane maintiennent la population à un niveau très bas pendant une longue période, ce qui n'est pas le cas pour le Kelthane et le Parathion par exemple. Ce fait est certainement dû à une longue action résiduelle et il semble qu'il faille s'orienter vers les insecticides présentant cette propriété pour résoudre le problème du tarsonème.

TABLEAU I

Essai comparatif d'insecticides en 1958

Données de l'essai : 3 traitements à une semaine d'intervalle, en juillet
Variété Mme Lefèbvre, 3 ans, forte atteinte
MOYENNE D'INDIVIDUS VIVANTS PAR PLANTE

Insecticides et doses	8 jours après le dernier traitement	10 semaines après le dernier traitement (oct. 1958)	un an après le dernier traitement (juillet 1958)
Endrine 20cc/are	0,7	0	0
Kelthane WP 25 gr/are	1,6	7	7,3
Thiodane 30cc/are	1,8	5,4	2,5
Parathion (E605) 10cc/are	8,4	—	—
Lindane émulsion 20cc/are	12,2	5,8	11,5
Isochlorthion 10cc/are	12,0	—	—
TÉMOIN	60,7	16,9	16,5

TABLEAU II

Essai comparatif d'insecticides en 1959

Données de l'essai : 2 traitements en août 1959 (18 et 25-VIII)
Variété Triomphe de Tihange, 2 ans, forte atteinte
MOYENNE D'INDIVIDUS VIVANTS PAR PLANTE (sur 10 plantes)

Insecticides et doses	10 jours après le dernier traitement	7 semaines après le dernier traitement
Endrine 20cc/are	6	3,8
Kelthane WP 25 gr/are	46,3	67,4
Kelthane WP 50 gr/are	23,5	48,6
Thiodane 30cc/are	4,8	1,0
Parathion (E605) 10cc/are	20,5	54,0
Parathion huileux (10% M.A.) 100cc/are	26,5	52,2
TÉMOIN	79,8	102,7

c) *Traitements en fin de saison et doses d'insecticides*

Du fait que nous supprimons les traitements de début de saison, il subsiste un danger de voir les dégâts apparaître avant la fin de la récolte (cas de 1960). Sur la base de rapports d'essais effectués en Hollande (7), nous avons procédé à des essais de traitements en fin de saison. Nous reproduirons les résultats d'un seul essai avec Endrine, essai portant en même temps sur la dose par unité de surface.

Tableau III

Essai de traitements en fin de saison

Données de l'essai : Insecticide Endrine émulsion (19,8 %), 20, 40, et 80 cc/are. Un seul traitement, le 3-XI-58. Contrôle : 13-VII-59.

Résultats Doses d'Endrine par are	Moyenne d'individus vivants/plante (Moyenne de 10 plantes)	
	Répétition I	Répétition II
20 cc	0,7	1,3
40 cc	0,9	0,2
80 cc	0	0
Témoin	9,9	4,7

On constate comme dans l'essai précédent que l'Endrine maintient la population plus basse que dans le témoin, au moins jusqu'après la récolte de l'année suivante.

De nombreux autres essais notamment en fin 1959, mais dont les résultats ne sont pas entièrement calculés, confirment cette tendance, même pour les autres insecticides cités plus haut.

En augmentant la dose, tout au moins pour l'Endrine, on peut même obtenir un résultat de 100 %.

Il s'agit là d'une méthode élégante et économique qui mérite d'être étudiée de façon plus approfondie.

2° Technique d'application des traitements

Nous avons déjà vu qu'il peut être intéressant d'augmenter dans certains cas la dose d'insecticide employé.

En ce qui concerne la quantité d'eau à utiliser par unité de surface (indépendamment de la quantité d'insecticide utilisée), des essais ont montré clairement qu'il est nuisible d'employer une quantité d'eau trop faible, même avec un nébulisateur à moteur. Avec le nébulisateur à moteur « Solo », l'expérience a montré qu'il ne faut pas descendre en-dessous de 6 litres d'eau par are.

Pour ce qui concerne l'efficacité d'emploi de ce dernier appareil, comparativement à un pulvérisateur à dos ordinaire, type « Samdow », des essais biologiques n'ont jusqu'à présent fait ressortir aucune différence significative, toutes autres conditions d'essai étant semblables.

D. — Essais de désinfection des jeunes plants avant repiquage

Comme dit plus haut, l'idéal à atteindre est de pouvoir disposer de plants absolument indemnes de tarsonème. Dans des pays, comme l'Angleterre par exemple, où la production de plants sains et exempts de virus est remarquablement organisée, le tarsonème ne pose que peu de problèmes. Dans notre pays, cette multiplication de plants sains est organisée par la Station de Recherches de l'État pour l'Amélioration des Plantes fruitières et maraîchères à Grand-Manil. Mais comme le nombre de variétés disponibles est encore trop restreint, le producteur est souvent appelé à faire appel à des plants douteux. Il serait donc intéressant de mettre au point une méthode de désinfection des plants suffisamment simple et si possible applicable par le producteur.

La désinfection au bromure de méthyl et plus récemment à l'eau chaude, a été essayée par de nombreux chercheurs. On se heurte chaque fois à la même difficulté : la limite entre la mort des plantes et l'efficacité de 100 % est très faible, ce qui rend les méthodes aléatoires.

Nous avons pour notre part essayé la méthode de trempage des jeunes plants dans une solution insecticide pendant un temps déterminé.

C'est une pratique extrêmement simple applicable par chaque producteur, mais ici encore, on se heurte à la même difficulté : limite trop faible entre l'effet phytotoxique et l'efficacité de 100 %. Des insecticides très efficaces tels que l'Endrine et surtout le Thiodane se montrent trop phytotoxiques. Le Kelthane WP par contre est moins nocif mais le résultat est aléatoire. De nouveaux essais montreront si cette méthode peut être améliorée ou doit au contraire être abandonnée

Conclusions finales

1) Lors des essais de lutte on se heurte à une difficulté essentielle, à savoir la destruction à 100 % de la population, de sorte que la remultiplication de la population survient à plus ou moins longue échéance.

2) Les traitements en début de saison étant peu efficaces et dangereux du point de vue sanitaire, nous préconisons la méthode suivante : traitements en fin de saison maintenant la population suffisamment basse jusqu'après la récolte, ces traitements étant combinés si nécessaire avec des traitements après récolte.

3) Très peu d'insecticides ont une efficacité suffisante contre le tarsonème. Il semble en tous cas que l'on doive s'orienter vers des pro-

duits présentant une longue postaction, du type Endrine et probablement Thiodane.

4) Une quantité d'eau suffisante par unité de surface est nécessaire pour obtenir de bons résultats. L'augmentation de la dose d'insecticide améliore généralement l'efficacité des traitements. Une différence d'efficacité entre le nébulisateur à moteur (forte pression) et le pulvérisateur à dos ordinaire n'a pas été clairement démontrée.

5) En dehors du processus de traitement appliqué aux jeunes plants lors de la production de stolons exempts de virus, aucune méthode connue ne donne toute satisfaction pour la désinfection de ces stolons contre le tarsonème.

III. — Botrytis cinerea pers. La pourriture des fraises

Le problème du *Botrytis* sur fraises a également fait l'objet de nombreuses recherches au cours des années passées et se poursuit encore à l'heure actuelle. Les résultats obtenus ont déjà été publiés (7) (8). Les personnes que la chose intéresse pourront utilement se référer à ces publications pour compléter les données de cet exposé forcément restreint. Cet exposé reprend dans les grandes lignes l'ensemble du problème et est complété de certaines données recueillies en 1959 notamment en ce qui concerne la question de résidus sur fruits.

Position du problème

L'étude de l'épidémiologie de *Botrytis cinerea* sur fraisier est à la base de toute méthode de lutte efficace et économique. Il importe de bien connaître le mécanisme de l'infection et les facteurs qui conditionnent la réussite des infections. Notre étude a porté jusqu'à présent sur la protection des organes fructifères depuis le bouton floral jusqu'au fruit mûr. Mais en 1960 en particulier, nous avons constaté des attaques importantes du cryptogame sur le cœur du fraisier, notamment pour la variété *Senga Sengana.*

Si l'on admet qu'il y a continuellement présence de conidies responsables de l'infection, depuis le stade bouton floral jusqu'à la récolte, la nécessité d'appliquer des traitements fongicides sera conditionnée par 2 facteurs :

— la présence d'organes fructifères sensibles à l'infection,
— la présence de conditions favorables à la réussite de l'infection.

La lutte proprement dite revêt plusieurs aspects :

— Connaissance du mécanisme de l'infection de façon à déterminer le type de traitement applicable : préventif ou en « stop-spraying ».

— Détermination du meilleur fongicide et de son action résiduelle.
— Étude de la meilleure technique d'application. Sous ce chapitre, nous inclurons la question de dose de fongicide et de méthode d'application (pulvérisation-nébulisation-poudrage).
— Étude des effets secondaires, principalement les résidus sur fruits.

I. — Étude du processus d'infection (1)

a) *Facteurs influençant la réussite de l'infection*

Parmi les facteurs pouvant jouer un rôle déterminant dans la germination des spores et donc la réussite de l'infection, nous retiendrons surtout la température, l'humidité et la nature du substrat.

Les deux tableaux suivants donneront une idée de l'influence de différents facteurs.

Tableau I

Influence de la température et de la nature du substrat sur la germination des conidies de Botrytis cinerea.

Substrat	Température	Germination après 3 h	6 h	24 h	48 h
Eau distillée	5°	0	0	1	6
	10°	0	1	59	68
30 sp/ch. mic.	15°	9	39	91	92
	20°	2	33	93	98
	25°	2	19	41	44
	30°	0	0	0	1
		3 h	5 h	7 h30	18 h
Jus de fraises stérilisé	5°	0	2	2	100
	10°	1	2	90,5	100
	15°	2	98	100	100
150 sp/ch. mic	20°	30	90	100	100
	25°	4,5	75	100	100
	30°	0	4,5	92,5	100
	35°(2)	0	+	+	+

L'étude du tableau I permet les déductions suivantes :

— les températures comprises entre 15 et 20°C, voire même 25°C sont les plus favorables à la germination des conidies. Ce sont des tem-

(1) Étude entreprise en collaboration avec Mr. G. L. Hennebert, Ing. Agr. L. V. aspirant FNRS, Section Phytopathologie de l'Inst. Agron. Louvain.

(2) A 35° on constate que les spores gonflent démesurément, puis éclatent pour la plupart.

pératures couramment rencontrées (surtout 15 à 20°C) au moment de la formation des organes fructifères.

— le jus de fraises augmente non seulement le pourcentage mais aussi la rapidité de germination des conidies, et cela même pour des températures défavorables à la germination dans l'eau.

TABLEAU II

Influence de l'humidité sur l'infection par Botrytis cinerea

Explication de l'essai : des fraises rouges ont été inoculées par pulvérisation d'une suspension de spores, puis placées en chambre humide à brouillard pendant des durées différentes. Nous avons utilisé 50 fruits par objet.

Durée du séjour en chambre humide	Nombre de fruits atteints				
	0 h	4 h	8 h	12 h	24 h
Essai I : *Variété Mme Lefèbvre*					
T° 14°C	0	0	15	41	—
Essai II : *Variété Sans Rivale*					
T° 14°C	0	3	3	11	11
Essai III ; *Variété Sans Rivale*					
T° 18°C	0	12	11	17	18

Les trois essais ci-dessus nous permettent les déductions suivantes :

— A la température de 14-15°C, l'infection se déclenche lorsque les plants sont placés en chambre humide pendant 4 heures pour la variété Sans Rivale, 8 heures pour Mme Lefèbvre.

— Au fur et à mesure que l'on allonge la période de chambre humide, le pourcentage d'infection augmente, avec un plafond paraissant se dessiner à partir de 12 heures.

Si la température est plus élevée (18-20°C) les mêmes phénomènes se reproduisent : on constate simplement que les pourcentages d'infection sont plus élevés pour chaque période de chambre humide.

b) *Mécanisme de l'infection*

En vue de déterminer le temps dont on dispose, à partir du moment de l'inoculation, pour intervenir par des traitements fongicides, il est intéressant de suivre au microscope l'évolution des conidies placées à la surface d'un fruit mûr. Dans ce but, on prélève, à intervalles déterminés à partir de l'inoculation, de fines lamelles à la surface du fruit et on les examine au microscope.

— Après 5 heures (température 20°C) presque toutes les spores ont émis un tube germinatif, mais on ne constate encore aucune pénétration.

— Après 20 heures environ on constate nettement autour des tubes germinatifs un anneau de décoloration dans les cellules de l'épiderme, ce qui signifie que le tube germinatif a commencé à pénétrer dans la cellule.
— Par la suite, on constate que la cellule atteinte prend une teinte brunâtre contrastant avec la coloration rouge des cellules avoisinantes.
— C'est donc environ 20 heures après inoculation à la température de 20° que la pénétration débute. Ces observations devraient être poussées plus loin, notamment pour se rendre compte jusqu'à quel moment les spores en germination peuvent être détruites par les traitements fongicides.
— Les observations macroscopiques en serre, dans les mêmes conditions de température, permettent de déceler environ 24 heures après inoculation l'apparition de minuscules taches brunâtres qui s'étendront par la suite. Les deux genres d'observation concordent donc bien.

L'étude du phénomène et des facteurs qui l'influencent nous amène aux conclusions pratiques suivantes :

— On peut considérer que des températures entre 15 et 20°C sont les plus favorables à la germination du *Botrytis cinerea*, mais dans le jus de fraises, et probablement sur fruits mûrs, la germination est très bonne entre 5 et 30°C, donc pratiquement à toutes les températures rencontrées à la saison des fraises.
L'incubation de *Botrytis cinerea* sur fraises est un phénomène très rapide. On peut escompter qu'après 20 à 24 heures, il n'est déjà plus possible de stopper le développement de l'infection. D'autre part, si l'on considère que les nouvelles conidies sont déjà formées après 3-4 jours et que ces conidies ont atteint leur maturité, donc le pouvoir germinatif maximum après 3 à 6 jours, le cycle évolutif complet de la maladie est de 6 à 10 jours. En conditions idéales, l'infection d'une fraisière sera donc extrêmement rapide.
— Compte tenu de la rapidité d'évolution du champignon, on dispose de très peu de temps pour effectuer les traitements fongicides en nature lorsqu'une infection s'est produite. On devra donc appliquer la méthode de traitement « préventive » plutôt que le « stop-spraying ».

II. — Sensibilité des différents organes fructifères

Du fait que la méthode de lutte doit être essentiellement préventive, il est intéressant de déterminer la sensibilité des différents organes fructifères de façon à circonscrire éventuellement des périodes où les

traitements ne seraient pas nécessaires par suite de l'absence d'organes infectables.

En vue de déterminer la sensibilité de chaque organe, nous avons procédé à des infections artificielles sur les différents stades fructifères de plantes en serre (50 organes par objet). Ces plantes ont été placées, après inoculation des organes, dans des conditions favorisant l'infection (24 à 45 heures en chambre humide — température moyenne 18°C). Les organes ont alors été comparés à d'autres gardés dans les conditions normales de la serre. Le tableau III donne les principaux résultats de ces essais.

Tableau III

Sensibilité de différents organes fructifères à l'infection par Botrytis cinerea
Nombre d'organes atteints sur 50

Organes fructifères	Lot inoculé	Lot témoin
Boutons floraux	4	0
Fleurs	38	1
Petits fruits verts	5	0
Fruits blancs	33	1
Fruits rouges	49	3

Les conclusions suivantes se dégagent du tableau III :

— Les boutons floraux sont très peu sensibles à l'infection. Les boutons notés comme atteints dans le tableau III ont plutôt avorté et il n'est pas certain qu'ils aient été effectivement atteints par le cryptogame. Ce fait est d'ailleurs confirmé par des essais en nature : les traitements fongicides effectués au stade bouton floral n'ont pas d'influence sur le résultat final de l'essai.

Il faut noter qu'en 1960 dans les parcelles présentant des atteintes du cœur du fraisier, des hampes florales entières ont été détruites par le cryptogame, mais même dans ces cas il était rare de voir un bouton floral atteint isolément, sans que l'infection ne se soit propagée à partir du cœur.

— Les fleurs et particulièrement le stade fin de floraison (nouaison du fruit) sont très sensibles à l'infection, ce qui est confirmé par des essais en nature.

— Le stade « petit fruit vert » est peu sensible mais comme dans la pratique il se trouve mêlé à d'autres stades plus sensibles, il ne semble pas que l'on puisse cesser complètement les traitements pendant une période déterminée.

— Plus un fruit arrive près de sa maturité, plus il est sensible. Ce fait

pose un grave problème de protection fongicide : il ne faut pas perdre de vue que la récolte s'échelonne souvent sur 3 semaines. Si les traitements doivent être arrêtés ne serait-ce que 8 jours avant la première cueillette, il est peu probable que les fongicides puissent exercer leur action pendant un mois surtout en cas de précipitations nombreuses et les fruits sont exposés à l'infection pendant une longue période, ce que confirment d'ailleurs les observations dans la pratique.

III. — Étude de la lutte dans la pratique

a) *Efficacité comparative de différents fongicides*

Un très grand nombre d'essais ont été effectués de 1956 à 1960 dans le but de déterminer le fongicide ayant la meilleure efficacité contre le *Botrytis*.

Nous nous contenterons de reprendre ici les conclusions auxquelles ces essais nous ont conduits.

Deux fongicides se sont détachés au point de vue efficacité : le TMTD et le Captane, avec une légère prédominance en faveur du premier. Depuis peu, un troisième fongicide est venu s'ajouter : le Phaltane. D'après les essais auxquels nous nous sommes livrés en 1960, son efficacité ne paraît cependant pas supérieure à celle du TMTD.

Le mélange TMTD + S a également été testé avec des fortunes diverses. Certains de ces mélanges de formulation commerciale se sont cependant révélés quelque peu phytotoxiques.

Notons que les résultats obtenus ont souvent été excellents. C'est ainsi qu'en 1958 (année fortement pluvieuse) 6 traitements au « Pomasol forte » (80 % de TMTD), à la dose de 20 gr/are, sur variété Senga Sengana de très forte végétation, ont donné un pourcentage relatif d'atteinte de 3,5 % dans la parcelle traitée par rapport au témoin posé égal à 100 (le nombre moyen de fruits atteints sur 10 plantes étant calculé pour la parcelle traitée par rapport au nombre de fruits ramené à 100 dans le témoin).

Il est à remarquer par ailleurs que les traitements fongicides se révèlent souvent plus efficaces sur des fraisiers à forte végétation.

b) *Action résiduelle des fongicides*

L'étude de cette question très importante pour la détermination de la cadence des traitements a débuté en 1960 pour le TMTD par des essais biologiques et des analyses chimiques. Il est encore trop tôt pour tirer des conclusions définitives mais il s'avère que le TMTD est assez tenace même en présence de précipitations pourvu que le fongicide ait eu le temps de sècher sur l'organe envisagé (voir le point e

ci-dessous). Le développement de l'organe joue sans doute un grand rôle dans l'action résiduelle du fongicide.

c) *Influence de la dose de fongicide*

Des essais avec des doses croissantes de fongicides par unité de surface ont également été entrepris. L'un des résultats obtenus est consigné dans le tableau IV.

TABLEAU IV

Influence de la dose de fongicide

Données de l'essai : Variété Talisman, 2 ans, végétation forte. 4 traitements entre le 21-V et le 21-VI-58. Doses de « Pomasol forte» (80% de TMTD) : 20-40-80 et 150 gr/are. Comptage le 27-VI-58.

RÉSULTATS

Doses	Pourcentage relatif d'atteinte	Nombre de fruits pourris par kg de fruits sains récoltés
20 gr	15,2	20,6
40 gr	13,5	22,2
80 gr	7,6	14,9
150 gr	5,5	3,4
TÉMOIN	100	525

L'augmentation de la quantité de fongicide améliore quelque peu le résultat lorsqu'on passe de 20-40 gr à 80-150 gr.

Le résultat est cependant déjà excellent à la dose ordinaire de 20 gr et l'augmentation de la dose pose des problèmes économiques et sanitaires (résidus).

Il nous paraît cependant intéressant d'étudier l'effet d'une forte dose appliquée à un moment à déterminer, dans le but d'assurer une désinfection aussi complète que possible de la fraisière et du paillis.

d) *Influence de la méthode d'application du fongicide*

Il est intéressant de se demander si la méthode d'application du fongicide (nébulisation, pulvérisation ou poudrage) exerce une influence sur le résultat final, la quantité de matière active de fongicide par unité de surface restant la même dans tous les cas.

Les résultats des essais auxquels nous avons procédé ont été variables. Cependant si les différences entre nébulisation et pulvérisation semblent peu significatives, le poudrage donne en général des résultats quelque peu inférieurs.

e) *Résidus de fongicides sur fruits récoltés*

Cette question est d'autant plus importante à résoudre que l'une des conclusions importantes de cette étude est que les fruits mûrs constituent l'un des stades les plus sensibles au cryptogame.

En 1959 et 1960, en collaboration avec le Centre de Recherches de Phytopharmacie (I.R.S.I.A.) dirigé par le Professeur Martens de l'Institut agronomique de Gembloux, nous nous sommes livrés à des essais en vue de déterminer les résidus initiaux et la persistance de ces résidus sur fraises au moment de leur cueillette. Les traitements ont été effectués avec plusieurs doses de TMTD par unité de surface. Le tableau V donne le résumé des résultats obtenus en 1959 (résultats complets non encore publiés).

TABLEAU V

Résidus de TMTD sur fraises

ESSAI I

Données : — Variété Régina, 2 ans, végétation moyenne.
— Fongicide « Pomasol forte » (80% de TMTD), à la dose de 20-40-80-150 gr/are.
— 4 traitements les 29-IV, 13, 23 et 29-V-59.
— Première cueillette le 29-V = jour 0.
— Autres cueillettes au fur et à mesure de la maturation des fruits aux jours 3-5-7-14-21.
— Précipitations totales entre la première et la dernière cueillette : 9,5 mm.

RÉSULTATS

Doses	Résidus moyens en p.p.m.					
	Jour 0	Jour 3	Jour 5	Jour 7	Jour 14	Jour 21
20 gr	2,56	2,42	1,71	1,51	0,31	0,00
40 gr	5,68	4,03	3,97	3,45	2,35	0,25
80 gr	12,98	8,55	7,20	6,81	6,16	1,74
150 gr	22,24	16,41	14,99	14,40	13,00	7,97

ESSAI II

Données : Variété Senga Sengana, 1 an, végétation forte. Mêmes fongicide et doses que pour l'essai I. 5 traitements les 5, 11, 19, 28-V et 7-VI-59. Première cueillette le 7-VI = jour 1. Précipitations totales entre la première et dernière cueillette : 5,9 mm.

RÉSULTATS

Doses	Résidus moyens en p.p.m.		
	Jour 1	Jour 5	Jour 15
20 gr	3,18	1,32	0,03
40 gr.	4,67	3,63	0,82
80 gr.	10,78	8,96	3,27
150 gr.	22,29	18,93	6,66

L'étude des chiffres du tableau V nous montre que les résidus augmentent régulièrement avec l'augmentation de la dose de fongicide. Les résidus initiaux ne décroissent que lentement surtout si l'on tient compte du fait que les fruits cueillis 15 jours à 3 semaines après la première cueillette étaient encore petits et verts au moment du dernier traitement.

On remarquera que les résidus initiaux relevés dans les parcelles traitées à la dose ordinaire de 20 gr sont relativement faibles. Ils sont même parfaitement acceptables si l'on admet la limite de tolérance de 7 ppm renseignée par les normes américaines. Il importe cependant de se montrer très prudent et de procéder à de nouveaux essais sous différentes conditions avant d'appliquer ces conclusions à la pratique, surtout si l'on sait que les producteurs ne respectent pas toujours les prescriptions recommandées, en particulier la dose, lors des traitements antiparasitaires.

Conclusions finales

1) L'infection par *Botrytis cinerea* est possible dans des limites très larges de température. Les températures de 15 à 20°C sont les plus favorables à la germination des spores.

2) Le facteur d'infection le plus important en nature est certainement l'humidité (son degré et sa durée). Les premiers essais ont montré que si les plantes restent humides pendant 12 heures consécutives (température 15-20°C) le pourcentage d'infection est déjà très important pour autant que les sources d'infection soient suffisantes.

3) Les différents stades fructifères ont une sensibilité différente à l'infection. Les boutons et les petits fruits verts sont peu sensibles. Les fleurs et surtout le stade fin de floraison sont très sensibles. Les fruits sont d'autant plus sensibles que la maturité est plus avancée. Ces observations résultant d'essais en serre sont confirmées dans les grandes lignes par des essais de dates de traitement en nature.

4) Le processus d'infection par *Botrytis cinerea* est extrêmement rapide, de sorte que la lutte devra se faire par la méthode préventive.

5) Parmi les fongicides efficaces, nous retiendrons le TMTD, le Captane, le Phaltane, et éventuellement le mélange TMTD+S.

6) L'augmentation de la dose de fongicide par unité de surface n'améliore pas très sensiblement l'efficacité des traitements et elle pose d'ailleurs des problèmes économiques et sanitaires.

7) Les premiers essais tendant à déterminer les résidus de pulvérisation sur fruits mûrs révèlent, pour le TMTD, une quantité relativement faible de résidus, pour les traitements à la dose ordinaire de 20 gr à l'are.

BIBLIOGRAPHIE

Sphaerotheca humuli

(1) Ingram J., Schofield E. R. and Taylor R. E. (1957). An Observation of the Control of strawberry mildew. *Plant Pathology*, **6**, 63-64.
(2) Longree K. (1939). The Effects of temperature and relative humidity on the powdery mildew of roses. Cornell Un. Agricult. Experim. Stat. Mem. 223.
(3) Miller P. W. and Waldo G. F. (1957). Relative Resistance of some Strawberry varieties and selections to powdery mildew at Corvallis Oregon. *Plant Diseases Reporter*, **41**, 23-24.
(4) Muller H. W. K. (1957). Zum Auftreten und zur Bekämpfung des Erdbeermehltaues unter Berücksichtigung der Erdbeergraufäule. *Nachr. d. Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, **9**, pp. 85-88.
(5) Till B. B. (1958). Experimental Control of Strawberry Mildew in Cheddar. *Plant Pathology*, **7**, pp. 30-31.
(6) Viennot-Bourgin G. (1949). Les champignons parasites des plantes cultivées, pp. 256-264.

Tarsonemus Pallidus

(1) Van den Bruel W. E. Sur la présence en Belgique d'un redoutable ravageur du fraisier Tarsonemus Pallidus Banks (Syn. T. fragariae Z.). *Parasitica*, **2**, 1946, pp. 129-136.
(2) Van den Bruel W. E. & Colin G. Le problème du tarsonème du fraisier. 1. Essais d'orientation sur des traitements curatifs effectués sur champ (1951). *Parasitica*, **9**, 1953, pp. 14-35.
(3) Van den Bruel W. E. & Derard J. Le problème du Tarsonème du fraisier. 2. Essais de traitements curatifs effectués sur champ (1952). *Parasitica*, 9, 1953, pp. 75-88.
(4) Van den Bruel W. E. & Derard J. Le Problème du Tarsonème du Fraisier. 3. Confrontation des méthodes de lutte proposées (essais 1953 + 1954). *Parasitica*, **10**, 1954, pp. 133-156.
(5) Daels F. De aardbeiemijt. Tuinbouwberichten, 2, 1956.
(6) Hahmann K. & Muller H. W. K. Zum Auftreten und zur Bekämpfung der Erdbeermilbe. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, **3**, 1951, 33 bis 37 ; **4**, 1952, pp. 33-37.
(7) Mededelingen van Rijkstuinbouwconsulent van Plantenziekten, N° 12, december 1955 ; N° 4, april 1956.
(8) Moesel R. H. & Neinwander R. B. Cyclamen mite control. *Ohio Florist Bulletin*, N° 320, mai 1956.
(9) Muller H. W. K. Zum Auftreten und zur Bekämpfung von Milben (Tarsonemiden) an gärtnerischen Pflanzen. *Nachrichtenblatt d. Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, **8**, 1956, pp. 98-102.
(10) Van de Vrie M. Biologie en bestrijding van de aardbeimijt. *Mededelingen Dir. Tuinbouw*, **20**, 1957, pp. 433-438.
(11) Wiesmann R. Untersuchungen über die Biologie und Bekämpfung der Erdbeermilbe, Tarsonemus pallidus (fragariae Z) Banks. *Landw. Jahrb. Schweiz*, **55**, 1941, pp. 259-239.

Botrytis cinerea

(1) Brown W. (1922). The physiology of the host parasites relation. *Ann. Botany*, **36**, 101-119.
(2) Brown W. (1922). Studies of the physiology of parasitism. VIII. On the exosmosis of nutrient substances from the host tissue into the infection drop. *Ann. of Botany*, **36**, pp. 102-119.
(3) Brown W. (1922). Studies in the physiology of parasitism. IX. The effect on the germination of fungal spores of volatile substances arising from plant tissues. *Ann. Botany*, **36**, pp. 288-300.
(4) Campbell L. (1956). Control of plant diseases by soil-surface treatment. *Phytopathology*, **46**, p. 635.
(5) Clayton C. N. (1942). The germination of fungus spores in relation to controlled humidity. *Phytopathology*, **32**, pp. 921-934.
(6) Domsch K. H. (1957). Zur Substratabhängigkeit von Botrytis Infektionen. *Zt Pflanzenkrankh.*, **64-3**, pp. 129-130.
(7) Frick E. L. (1954). Laboratory tests of the effects of fungicides on the spore-germination of Botrytis cinerea Pers.
(8) Gilles G. (1959). Biologie et Lutte contre Botrytis Cinerea Pers. sur fraisiers. *Höfchen Briefe*, 1959, 3, pp. 141-168.
(9) Hennebert L. et Gilles G. (1958). Epidémiologie de Botrytis Cinerea Pers. sur fraisiers. *Mededelingen van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent*, 1958, **23**, pp. 864-888.
(10) Kirby A. H. M., Moore M. H., Wilson D. J. (1955). Strawberry Botrytis rot control : a field trial of Captan at East-Malling. *Journal of Hort. Sciences*, **30**, pp. 220-224.
(11) Mappes F. (1958). Die Bekämpfung von Botrytis Cinerea an Erdbeeren. *Hort. Abstr.* mars 1958, pp. 48, N° 277.
(12) Marrou J. (1958). Efficacité de quelques fongicides dans la lutte contre la pourriture des fraises. *Revue Horticole*, Paris, (mai-juin 1958), pp. 1826-1827).
(13) Marsch R. W., Martin J. T., Crang A.(1955). The Control of Botrytis rot of strawberries and the effects of fungicide spray residues on the processed fruits. *Journ. of Hort. Sciences*, **30**, pp. 225-233.
(14) Moore M. H., Tew R. P. (1955). Greenhouse testing of fungicides against Botrytis rot of strawberries and other soft fruits. *Journ. of Hort. Sciences*, **30**, 213.
(15) Muller H. W. K. (1957). Zum Auftreten und zur Bekämpfung des Erdbeermehltaues unter Berücksichtigung der Erdbeergraufäule. *Nachr. d. Deutschen Pfl.*, **9**, pp. 85-88.
(16) Nelson K. E. (1951). Factors influencing the infection of table grapes by Botrytis cinerea Pers. *Phytopathology*, **41**, pp. 319-326, 3 fig.
(17) Nelson K. E. (1951). Effects of humidity on infection of table grapes by Botrytis cinerea Pers. *Phytopathology*, **41**, pp. 859-864, 2 fig.
(18) Schulte-Scherlebeck (1958). Grauschimmelfäule der Erdbeere, eine zunehmende Gefahr ? *Hort. Abstr.*, mars 1958, p. 48, n° 278.
(19) Stoddard E. M., Miller P. M. (1956). Control of grey mold on strawberries under greenhouse conditions. *Plant disease Reporter*, **40**, pp. 443-445.

Résumé

Tarsonème

Cet acarien de 0,1 à 0,2 mm de long vivant dans le cœur du fraisier occasionne des dégâts surtout en juillet-août-septembre. Le fraisier est affaibli et la récolte de l'année suivante est fortement compromise.

Les traitements insecticides au printemps donnent généralement des résultats insuffisants et peuvent laisser des résidus sur fruits. Après récolte, on obtient des résultats pouvant atteindre 100 % avec des produits adéquats, une dose et une quantité d'eau suffisantes. Les traitements à la fin de la période de ponte (octobre) retardent en général l'augmentation de la population en juin-juillet, ce qui permet d'attendre la fin de la récolte pour traiter, sans que les dégâts ne soient apparus.

Botrytis

Des études de laboratoire ont montré que la durée d'incubation du *Botrytis* sur fraises est extrêmement courte : après 24 heures, le tube germinatif a déjà envahi profondément les tissus. Il semble donc que la seule méthode de traitement possible soit la méthode préventive.

Si l'on observe des vols de spores pendant toute la saison, des essais en serre et en nature ont montré que les boutons floraux sont très peu sensibles à l'infection par *Botrytis*. Les traitements ne devront donc commencer qu'au début de la floraison. Le fait que la sensibilité des fruits augmente avec le degré de maturité pose des problèmes pour la lutte dans la pratique, notamment en ce qui concerne les résidus.

Oïdium

L'expérience a montré qu'il est absolument indispensable d'appliquer des traitements fongicides dès les premières infections si l'on veut obtenir de bons résultats. Il faut donc bien connaître le mode d'hibernation du cryptogame et les conditions climatiques permettant la réussite de l'infection.

Le mécanisme de l'infection doit également être bien connu pour savoir si les traitements en stop-spraying peuvent être appliqués. Les facteurs suivants jouent un rôle dans la cadence des traitements au cours de la saison :

— La formation de nouvelles feuilles.

— L'établissement de conditions climatiques favorables aux infections.

— L'action résiduelle des fongicides employés, en fonction surtout de l'accroissement de la végétation et des précipitations.

Biology and control of some strawberry parasites

Summary

Strawberry mite

This mite of 0,1 - 0,2 mm long is living in the hart of the plant and causes damages mostly in july, august, september. The strawberry plant is weakened and the yield of the following year is badly reduced.

The treatments with insecticides in the spring give generally insufficient results and will probably let some residues on the fruits.

After harvesting, it is sometimes possible to get 100 % results with adequate products and a sufficient quantity of water and product. Treatments at the end of the egg-laying period usually delay the multiplication of the population in june-july, so that it is possible to delay the treatments until after harvest, without any damage to the plants.

Grey mould

Laboratory studies have shown that incubation periode of *Botrytis* on strawberries is very short ; 24 hours after inoculation, the germinative tube has already deeply penetrated into the tissues. It seems that it is only possible to control this disease by the preventive method.

Although there are spores flights during all the season, trials in greenhouse and in nature have shown that the flower buds are pratically not sensitive to the infections. It is than possible to begin to spray only at the beginning of the blossom period. As the sensitivity of the fruits becomes higher with their ripening, sprays at this period cause some problems, mostly about residues.

Mildew

Experience showed that treatments against the first infections are absolutely necessary to get good results.

That is the reason why the kind of hibernation of the fungus and the climatic conditions of infections must be first studied.

The mecanism of infection must also be studied in order to know if stop-spraying treatments can be applied.

The following factors will be of any influence on the interval between two treatments during the season :

— Formation of new leaves.

— Climatic conditions favorable to infection.

— Residual effect of fungicides, mostly according with leaves growth and rain falls.

Einige tierische Parasiten, Pilze und Bekämpfungsmittel

ZUSAMMENFASSUNG

Tarsoneme

Dieser Acaride von einer Länge von 0,1 bis 0,2 mm lebt im Herzen der Erdbeerpflanze und richtet Schaden vor allem in den Monaten Juli-August-September an. Die Erdbeerpflanze ist geschwächt und die Ernte des folgenden Jahres ist sehr fraglich.

Die insektiziden Frühjahrsbehandlungen ergeben gewöhnlich ungenügende Resultate und können Rückstände auf den Früchten lassen. Nach der Ernte erzielt man Ergebnisse, die 100 % erreichen können, wenn man passende Mittel in genügender Menge und genügend Wasser anwendet. Die Behandlungen, die am Ende der Eierlegezeit (Oktober) stattfinden, verzögern für gewöhnlich die Vergrosserung der Bevölkerung in den Monaten Juni-Juli, was es ermöglicht, das Ende der Ernte zur Behandlung abzuwarten, ohne dass Schaden aufgetreten wäre.

Botrytis

Die Laboratoriumsstudien haben gezeigt, dass die Brutzeit von *Botrytis* auf Erdbeere ausserordentlich kurz ist ; nach 24 Stunden ist der Keimfaden schon tief in das Gewebe eingedrungen. Es scheint somit, dass die einzige mögliche Behandlungsmethode die zuvorkommende Behandlung sei.

Wenn man den Sporenflug während der ganzen Jahreszeit beobachtet, so haben Versuche in Treibhäusern und in der Natur gezeigt, dass die Blütenknospen wenig empfindlich gegen die Infektion von *Botrytis* sind. Die Behandlungen müssen somit erst im Anfang der Blüte erfolgen. Die Tatsache dass die Empfindlichkeit der Früchte mit fortschreitender Reife anwächst bietet Probleme für die Bekämpfung in der Praxis, vor allem was die Rückstände anbetrifft.

Oidium

Die Erfahrung hat gezeigt, dass es absolut unumgänglich ist, fungizide Behandlungen sofort bei den ersten Infektionen zu unternehmen, wenn man gute Erfolge erzielen will. Man muss somit die Art und Weise der Überwinterung des Pilzes gut kennen, wie auch die klimatischen Eigenschaften, die den Erfolg der Infektion gestatten.

Die Art und Weise der Infektion muss auch gut bekannt sein, um zu wissen, ob die Behandlungen im « stop-spraying » angewendet werden können.

Die folgenden Faktoren spielen eine Rolle in der Häufigkeit der auszuübenden Behandlungen während der Jahreszeit.

— Die Bildung von neuen Blättern.

— Das Auftreten von für die Infektion günstigen klimatischen Bedingungen.

— Die rückständige Wirkung von angewandten Fungiziden, in Anbetracht vor allem der Zunahme an Pflanzenwuchs und der Niederschläge.

The identification of strawberry viruses transmitted by aphids, leafhoppers and nematodes

by R. Cropley
East Malling Research Station (Royaume Uni)

Virus diseases of strawberry have been investigated in England since 1930, when yellow edge and crinkle diseases were causing degeneration of strawberry plants. These two diseases have since been shown to be caused by complexes of aphid-transmitted viruses (13, 14, 15, 16, 17).

Strawberry green petal disease (11) is caused by a group of viruses or virus strains transmitted by leafhoppers (2, 3). These viruses are prevalent in many common weeds which provide sources of infection for strawberry plants.

More recently three soil-borne viruses, tomato black ring, raspberry ringspot and arabis mosaic (raspberry yellow dwarf) have been shown to cause severe diseases in strawberry (5, 7, 9, 10). Arabis mosaic virus is transmitted by the nematode *Xiphinema diversicaudatum* (6, 8). The methods of spread of raspberry ringspot and tomato black ring viruses are not yet known, but nematodes are suspected as vectors.

The identification of strawberry virus diseases in the field is usually difficult and sometimes impossible. Symptoms vary with environmental conditions, the variety and the virus strain. Transmission tests are often the only means of identifying a virus or virus complex in strawberry plants.

Aphid-transmitted viruses

All of the aphid-borne viruses occurring in England are transmitted by *Pentatrichopus fragaefolii*, and can be classified into four main groups, characterised by the symptoms they produce on *Fragaria vesca* and by the acquisition threshold, latent and retention periods of the virus in the vector (4).

Virus Group	Acquisition	Latent Period	Retention
Mottle	1 hour	None	Few hours
Mild yellow edge	8 hours	Up to 48 hours	Many days
Crinckle	24 hours	12-16 days	Many days
Leaf curl (= Vein banding + latent A)	1 hour	None	Few hours

This classification of strawberry viruses will probably need considerable modification when other properties of the viruses have been investigated. Many viruses at present regarded as strains of mottle virus shown no evidence of strain interference in cross protection tests, and until the serological and physical properties of these viruses have been investigated their classification must be based on symptoms and the virus-vector relationships.

Leafhopper transmitted viruses

Several closely related viruses or virus strains infect strawberry plants and cause green petal disease. Some strawberry varieties, notably Cambridge Favourite, produce flowers with green petals, the fruits remain hard and green and are often held erect on stiff, brittle stalks. The young leaves are small, chlorotic and cupped and the old leaves become yellow and wilt. When the flower and fruit symptoms are seen the disease is easily diagnosed in the field, but many varieties do not develop typical flower symptoms and the disease can be confused with wilt diseases caused by other pathogens such as *Verticillium*.

Green petal viruses can be identified by transmission to *Trifolium repens* and *Vinca rosea*. In *Trifolium* spp. one virus or virus strain causes severe stunting, chlorosis and crown proliferation (witches broom). Another virus has less effect on the vigour of the plants, but cause phyllody of the flowers.

Both viruses have a long latent period in the vectors (20-50 days) which remain infective for several weeks and probably for life.

Of the leafhopper species tested, *Macrosteles* spp., *Eucelis* spp. and *Aphrodes bicinctus* readily transmit the virus from strawberry to *Trifolium*, but only *Aphrodes* has so far been shown to infect strawberry.

The viruses have a wide host-range including many common weeds, and it seems likely that *Macrosteles* and *Eucelis* transmit the virus among weeds under natural conditions, and that *Aphrodes* is responsible for the infection of strawberry plants.

Nematode-Transmitted Viruses

Of the soil-borne viruses affecting strawberry, Arabis mosaic virus is most prevalent in England, while in Scotland raspberry ringspot virus and tomato black ring viruses are widespread.

The symptoms caused by Arabis mosaic virus in strawberry vary considerably with the variety of strawberry and the strain of the virus. The variety Cambridge Favourite is severely stunted, ad the leaves

are distorted with yellow blotches and necrotic spotting. In Royal Sovereign, some virus strains cause necrotic spots on the leaves similar to those characteristic of infection by aphidborne crinkle virus, but other strains of the virus induce a bright yellow mosaic pattern on the leaves (1, 12).

The virus has a wide host-range, infecting several common weeds, and is readily transmitted by the nematod *Xiphinema diversicaudatum*. This and other soil-borne viruses are potentially very dangerous to the strawberry industry if infected land is used for propagation, as plants do not always show symptoms during the first year of infection and the virus may be widely dispersed in planting material.

The virus can be transmitted from young strawberry leaves by macerating them in an alkaline phosphate buffer (M/20), adding celite abrasive, and rubbing the sap on to the leaves of *Chenopodium amaranticolor* and *Petunia hybrida* plants. Symptoms develop on these indicator plants within 5-12 days, and the identity of the virus can be confirmed serologically. Crude sap from systemically infected *Chenopodium* or *Petunia* (but not strawberry) leaves gives strong precipitation lines in agar gel-diffusion serological tests.

REFERENCES

(1) Cropley, R., Ellenberger, C. E., and Jha, A. (1960). Strawberry mosaic and apple mosaic in strawberry. *Rep. E. Malling Res. Sta. for 1959*, pp. 96-7.
(2) Frazier, N. W., and Posnette, A. F. (1956). Leafhopper transmission of a clover virus causing green petal disease in strawberries. *Nature, Lond.*, **177**, pp. 1040-41.
(3) Id. (1957). Transmission and host range studies of strawberry green petal virus. *Ann. appl. Biol.*, **45**, pp. 580-88.
(4) Id. (1958). Relationships of the strawberry viruses of England and California. *Hilgardia*, **27**, pp. 455-513.
(5) Harrison, B. D. (1958). Raspberry yellow dwarf, a soil-borne virus. *Ann. appl. Biol.*, 46, pp. 221-9.
(6) Harrison, B. D., and Cadman, C. H. (1959). Role of a dagger nematode (*Xiphinema* sp.) in outbreaks of plant diseases caused by Arabis mosaic virus. *Nature*, Lond., 184, pp. 1624-36.
(7) Jha, A. (1960). An investigation of a soil-borne virus infecting the strawberry. *Thesis for Ph. D., University of London* (unpublished).
(8) Jhe, A., and Posnette, A. F. (1959). Transmission of a virus to strawberry plants by a nematode (*Xiphenema sp.*) *Nature*, Lond., **184**, pp. 962-3.
(9) Lister, R. M. (1958). Soil-borne virus diseases in strawberry. *Plant Pathology*, **7**, pp. 92-4.
(10) Id. (1960). Soil-borne virus diseases. *Sci. hort.*, **14**, pp. 90-96.
(11) Posnette, A. F. (1953). Green petal — a new virus disease of strawberries. *Plant Pathology*, **2**, pp. 17-18.

(12) Id. (1956). Strawberry mosaic virus disease. *Rep. E. Malling Res. Sta. for 1955*, p. 120.
(13) Prentice, I. W. (1948). Resolution of strawberry virus complexes. II. Virus 2 (mild yellow-edge virus). *Ann. appl. Biol.*, **35**, pp. 279-89.
(14) Id. (1949). Resolution of strawberry virus complexes. III. The isolation and some properties of virus 3. *Ann. appl. Biol.*, **36**, pp. 18-25.
(15) Id. (1952). Resolution of strawberry virus complexes. V. Experiments with viruses 4 and 5. *Ann. appl. Biol.*, **39**, pp. 487-94.
(16) Id. and Harris, R. V. (1946). Resolution of strawberry virus complexes by means of the aphis vector *Capitophorus fragariae* Theob. *Ann. appl. Biol.*, **33**, pp. 50-3.
(17) Prentice, I. W., and Woollcombe, T. M. (1951). Resolution of strawberry virus complexes. IV. The latent period of virus 3 in the vector. *Ann. appl. Biol.*, **38**, pp. 389-94.

Summary

Viruses transmitted by aphids, *Pentatrichopus fragaefolii*, cause yellow edge and crinkle diseases of strawberry. Severe symptoms on commercial varieties are usually caused by a combination of at least two viruses. The five groups of viruses can be distinguished by the acquisition threshold, latent and retention periods of the virus in the vector, and by symptoms on *Fragaria vesca*.

Leafhopper — transmitted viruses cause green petal disease in strawberry. These viruses can be transmitted by *Macrosteles* spp., *Eucelis* spp. and *Aphrodes bicinctus* to *Trifolium* spp., *Vinca rosea* and other indicator plants.

Arabis mosaic, raspberry ringspot and tomato black ring are three soil-borne viruses that infect strawberry and cause severe diseases resembling crinkle in some varieties. They can be transmitted by sap inoculation to herbaceous plants such as *Petunia hybrida* and *Chenopodium amaranticolor*, and identified by serological methods. *Arabis* mosaic virus is transmitted by the nematode *Xiphinema diversicaudatum*, while raspberry ringspot and tomato black ring viruses are also thought to be nematode transmitted.

L'identification des virus du fraisier transmis par les pucerons, les jassides et les nématodes

Résumé.

Les virus qui sont transmis par le puceron *Pentatrichopus fragaefolii* occasionnent les maladies du fraisier dites en anglais « yellow edge » [bord jaune] et « crinkle » [frisolée]. Chez les variétés du commerce, des symptômes sévères sont souvent déterminés par l'association d'au moins deux virus. Les cinq groupes de virus se distinguent par les différences, tant du seuil d'acquisition, de périodes de latence et de rétention à l'intérieur du vecteur, que de symptômes qu'ils provoquent chez *Fragaria vesca*.

Les virus disséminés par les jassides occasionnent la maladie « green petal » [pétale vert] du fraisier. Ces virus sont susceptibles d'être transmis par *Macrosteles* spp., par *Eucelis* spp. et par *Aphrodes bicinctus*, chez les *Trifolium*, la *Vinca rosea* et d'autres plantes indicatrices.

La mosaïque de l'*Arabis*, le « ringspot » du framboisier et le « black ring » de la tomate sont trois virus portés par le sol. Ils infectent le fraisier en provoquant des maladies graves qui, chez certaines variétés, sont semblables au « crinkle ». Ces maladies sont susceptibles de transmission par inoculation au moyen de sève, aux plantes herbacées telles que le *Petunia hybrida* et le *Chenopodium amaranticolor*, et on les identifie à l'aide de méthodes sérologiques. La mosaïque de l'*Arabis* est transmise par le nématode *Xiphinema diversicaudatum*, tandis qu'on présume le « ringspot » du framboisier et le « black ring » de la tomate d'être transmis, eux aussi, par des nématodes.

Die Identifizierung von Erdbeer-Virozen, die von Blattläusen, Zikaden und Fadenwürmern übertragen werden

ZUSAMMENFASSUNG

Viren, die von der Blattlaus *Pentatrichopus fragaefolii* übertragen werden rufen Blattrandvergilbung (yellow edge) und Kräuselkrankheit (crinkle) der Erdbeeren hervor. Bei den Ertragssorten werden ernste Symptome gewöhnlich durch die Vereinigung von wenigstens zwei Virusen hervorgerufen. Die fünf Gruppen von Viren kann man unterscheiden durch den Schwellenwert für die Aufnahme, die Dauer der latenten und der aktiven Phase des Virus im Überträger und durch die Symptome an *Fragaria vesca*.

Viren, die von Zikaden übertragen werden, rufen Vergrünung der Erdbeere (green petal) hervor. Diese Virosen können durch *Macrosteles* spp., *Eucelis* spp. und *Aphrodes bicinctus* sowohl auf *Trifolium* spp. und *Vinca rosea* als auch auf andere Indikatoren übertragen werden.

Gänsefussmosaik (*Arabis* mosaic), Himbeeren « ringspot » und Tomaten « black ring » sind drei im Boden übertragenen Viren, die Erdbeeren anstecken und Krankheiten hervorrufen, welche der Kräuselkrankheit ähnlich sehen. Sie können durch Saftimpfung auf krautartige Pflanzen, wie z.B. *Petunia hybrida* und *Chenopodium amaranticolor*, übertragen und durch serologische Methoden identifiziert werden. Der Gänsefussmosaik-Virus wird von dem Fadenwurm *Xiphinema diversicaudatum* übertragen, und die Übertragung von Himbeeren « ringspot » und Tomaten « black ring » findet vermutlich glechfalls durch Fadenwürmer statt.

Essais d'extraction de certains virus du fraisier

par P. Corn/et et J. C. Morand
Station Centrale de Pathologie végétale, INRA, Versailles (France)

Le broyage des feuilles de fraisier libère une quantité trè importante de polyphénols et de tanins qui dénaturent de façon irréversible les protéines et, par conséquent, les virus qu'on tente d'isoler. L'un d'entre nous avait déjà proposé deux méthodes pour éviter cette action : l'utilisation du sulfate de nicotine et l'extraction des tanins après lyophilisation. De nombreux essais nous ont permis de mettre au point une technique plus fine et plus sûre.

10 g de feuilles sont broyés à l'aide d'un broyeur mélangeur pendant 30 s dans 100 ml solution de sulfate d'ammonium, 1/5e de saturation neutralisée au pH 7,5 par une solution de cyanure de potassium à 5 ‰. Le jus est filtré sur une étamine, le liquide est rejeté, la pulpe conservée. Cette première opération a pour but d'éliminer la majeure partie des tanins. La pulpe est remise en suspension dans 100 ml de cette même solution de sulfate d'ammonium neutralisé Une congélation et - n nouveau broyage de 90 s assureront la libération des protéines et du virus dans le milieu, mais ceux-ci restent à l'état précipité grâce à la présence du sulfate d'ammonium. La suspension est alors filtrée sur étamine et centrifugée 15 m à 8000 t/m, le culot est conservé, on le lave rapidement dans une solution d'eau cyanurée et bisulfitée à pH 7,5. Après une nouvelle centrifugation le culot est mis en solution dans un tampon phosphate de Sörensen à pH 7,73. L'insoluble est éliminé par une centrifugation de 4 m à 4000 t/m ; le surnageant contient du virus et des protéines à l'état de solution stable. On peut effectuer des relarguages au sulfate d'ammonium 1/4 de saturation pour concentrer ou purifier le virus. L'efficacité de la méthode est vérifiée en mélangeant à l'extrait, au moment du premier broyage, un virus facile à doser, on le retrouve en effet intégralement à la fin des opérations.

Des préparations effectuées par cette méthode à partir de fraisiers des variétés « Surprise des Halles », « Sannier », « Avant-garde », ont été observées au microscope électronique. Ces études révélèrent, entre autres, la présence de particules du virus de la Moaïque du Tabac. Des inoculations mécaniques effectuées au *Nicotiana glutinosa*, *Datura stramonium* et *Nicotiana tabacum* variété « Xanthi » déterminaient la formation des lésions locales caractéristiques.

Par ailleurs nous retrouvions le virus de la Mosaïque du Tabac sur des fraisiers des bois (*Fragaria vesca*) ayant servi à indexer ces plantes. Il apparaissait donc évident qu'un vecteur avait réalisé cette inoculation et il était normal de supposer qu'il s'agissait précisément de celui qui avait été utilisé pour effectuer l'indexage : le *Passerina fragaefolii* Cock., puceron du fraisier.

Des essais de transmission ont confirmé ce fait, le virus de la Mosaïque du Tabac est transmis radicalement du fraisier au fraisier, le mode étant vraisemblablement celui des virus non persistants.

D'autre part, un certain nombre d'infections ont été réalisées sur des *Nicotiana tabacum* variété « Samsun ». Il ne semble pas qu'on puisse considérer ces infections comme d'accidentelles contaminations mécaniques car il est absolument impossible de la réaliser sciemment. Chez ces plantes l'*invasion* par le virus a été *très lente*. Il faut signaler que le *Passerina fragaefolii* ne se maintient pas plus de 5 heures sur le Tabac.

La méthode d'extraction citée plus haut a été appliquée aux virus 1 de Prentice.

Des inoculations mécaniques positives ont été effectuées sur : *Physalis floridana* et *Fragaria vesca*. Cependant sur cette dernière plante les symptômes n'ont jamais dépassé ceux d'une fine mosaïque à caractère fugace. Des tests de prémunition semblent cependant indiquer qu'il s'agit bien de l'infection par le virus 1 de Prentice.

Des résultats analogues ont été obtenus par la méthode d'extraction des acides nucléiques selon la technique de Gierer et Schramm et notamment l'infection du *Physalis floridana*.

Cette méthode semble être particulièrement propice à l'extraction des acides nucléiques infectieux des plants riches en polyphénols.

La sélection sanitaire du fraisier en France

(Extraits du commentaire d'un film présenté par P. CORNUET).

Station Centrale de Pathologie végétale, INRA, Versailles (France)

Trois caractères suffisent, dans le cas des maladies à virus des fraisiers, à justifier la méthode de lutte que l'on peut actuellement préconiser.

Les symptômes son essentiellement variables, variables d'abord selon les virus et les souches de virus en présence, variables avec la variété de fraisier considérée, variables enfin avec les conditions du milieu ; le bord jaune bien visible en septembre, la frisée au contraire se manifestant au printemps. La température, la nutrition, la date et le stade d'inoculation intervenant pour masquer ou exacerber les symptômes. Cette variabilité implique l'impossibilité de dire par simple examen visuel si une plante est saine.

La dissémination exclusive par les pucerons en ce qui concerne les virus les plus communs, est le deuxième caractère important ; le *Passerina fragaefolii* est le vecteur le plus fréquent et le plus efficace.

Enfin les maladies à virus sont des maladies généralisées, lorsque le pied-mère est atteint, les filets, même en l'absence de tous symptômes, sont automatiquement infectés. Ce principe élémentaire, le plus difficile à faire comprendre au fraisiériste, doit lui interdire de refaire ses plantations en prélevant des jeunes plants dans les anciennes cultures.

En postulant simplement que les viroses des fraisiers sont des maladies généralisées incurables, disséminées exclusivement par les pucerons et dont les symptômes sont très variables et souvent fugaces, on entrevoit que la seule méthode de lutte consiste à faire de la sélection sanitaire. Faire de la sélection sanitaire c'est choisir des plants sains et les multiplier à l'abri des contaminations.

La possibilité de choisir des plantes saines a été considérablement élargie depuis l'utilisation de la thermothérapie. C'est POSNETTE qui le premier en 1951 réussissait à traiter les virus 1 et 3 de Prentice sur fraisier cultivé et qui donnait tous les détails nécessaires à la bonne conduite des essais de thermothérapie. Depuis POSNETTE montrait la possibilité de traitement des virus 1, 2, 3, et 4. Aux États-Unis, MILLER en 1953 indiquait la possibilité d'effectuer des traitements à l'eau chaude, bien que les résultats fussent inconstants (43° à 48° pendant 30 m à 7 h). FULTON, en 1954 traitait le virus 2, le plus difficile à éliminer, en acclimatant les plantes quelques semaines à 27°, puis en laissant

trois mois à 38°. Enfin, Miller P. W. aux États-Unis, et Bovey, en Suisse, publiaient en 1954 les résultats d'importantes séries de thermothérapie.

En France, on effectue la thermothérapie en air chaud à 38° pendant 15 jours. En moyenne, 60 % des plantes traitées résistent. Elles sont testées pour s'assurer de leur guérison ; ce test utilise le *Fragaria vesca* qui est très sensible aux virus 1, 2 et 3. Pour l'effectuer, on place dix pucerons non infectieux sur la plante à tester ; on les laisse se multiplier quinze jours à trois semaines, puis à l'aide d'un pinceau on les prélève un par un pour les placer sur une plante de *Fragaria vesca* saine. Trois semaines après, on peut voir des symptômes, si le traitement par thermothérapie n'a pas été efficace ; dans le cas contraire, un test supplémentaire confirmera l'état de santé de la plante. Ce test consiste à greffer par approche un filet de fraisier cultivé contre un filet de fraisier des bois. Cependant les symptômes de choc déclenchés lors de l'inoculation par pucerons sont toujours plus forts que ceux survenant après greffage et par ailleurs le risque de disséminer un virus latent par la greffe nécessite l'élimination du pied testé d'où la nécessité d'utiliser un pied fille. Il a été possible de guérir à ce jour 76 variétés de Fraisiers et un nombre important de clones parmi les variétés courantes. Il existe deux centres de thermothérapie : l'un à Versailles pour la sélection sanitaire, l'autre à Avignon pour les études variétales.

Après avoir obtenu et choisi des plantes saines, nous en arrivons à la deuxième partie de la sélection sanitaire : la multiplication à l'abri des contaminations. Parmi les plantes testées chaque année à Versailles on choisit 150 plantes qui sont mises en multiplication la première année sous cage grillagées à la Station de St. Germain. La surface de ces cages est actuellement de 240 m², elle sera portée cette année à 440 m². Les 8.000 plantes obtenues appelées « Super Elites » sont confiées au Syndicat des Producteurs de Plants de Fraisiers, qui les multiplie, la deuxième année, en familles généalogiques dans des régions particulièrement bien isolées. Les 200.000 plantes « Elites » obtenues sont alors distribuées aux fraisiériculteurs agréés au contrôle pour leur ensouchement annuel. C'est ainsi 10 millions de plants qui reçoivent chaque année la vignette du contrôle officiel ; soit la valeur de la reconstitution de 400 ha. par an et le renouvellement normal de 1.600 ha, sur les 6.000 qui constituent les surfaces réservées au fraisier.

Parmi les pucerons signalés comme insectes vecteurs : le *Passerina fragaefolii* est certainement le vecteur le plus important, sa potentialité de dissémination du virus 1 est de 35 % (1 puceron infectieux par plante, 35 plantes infectées sur 100) que l'on peut comparer à 45 % pour l'enroulement disséminé par le *Myzus persicae* et 75 % pour la jaunisse de la betterave.

C'est donc un vecteur moyennement efficace. D'autre part la vitesse de recontamination par le virus 1 d'un clone sain, étudiée par POSNETTE et BOVEY, est de 10 % en 1re année, de 50 % la 2e année, et de 100 % la 3e année. Ces deux points montrent que la dissémination est moins rapide que pour les virus de la Pomme de terre et par conséquent, il y a tout à espérer de l'efficacité de la sélection sanitaire.

La dissémination des maladies à virus est fonction de 3 facteurs :

1°) de l'activité des vecteurs ;
2°) de la présence des sources de virus de la nature ;
3°) de la sensibilité de la plante à l'infection.

C'est en jouant sur chacun de ces facteurs que l'on peut établir un système de protection.

En fait, la sensibilité de la plante à l'infection est constante puisque pour la production de plants il y a formation tout au cours de la saison d'organes de tous âges. Seule la résistance variétale à l'infection ou à la pullulation peut intervenir, mais c'est là une question de génétique.

La présence des sources de virus dans la nature au voisinage ou dans les cultures est au contraire un facteur primordial. Les sources de virus autres que les fraisiers cultivés sont rares dans la nature ; d'ailleurs, il faut non seulement que la plante soit vivace pour conserver l'infection d'une année à l'autre et soit hôte du virus, mais encore qu'elle puisse être colonisée par l'insecte vecteur. Le *F. vesca* est un hôte médiocre pour le *Passerina* et par ailleurs en raison de son hypersensibilité, la concurrence vitale qui règne dans la nature fait disparaître rapidement les individus malades. En gros, on peut déduire que là où il n'y a pas de culture fruitière de fraises, les possibilités de contamination sont réduites, les règles d'isolement sont donc extrêmement importantes.

L'activité des vecteurs est le 3e facteur important, on peut s'y soustraire radicalement en plaçant les fraisiers sous cage, c'est ce qui est fait en première multiplication, mais bien entendu de telles possibilités sont réduites. On peut essayer de détruire les pucerons et le Fraisier est un des rares cas où la lutte aphicide est valable en sélection sanitaire. POSNETTE et CROPLEY ont en effet montré le rôle prépondérant des aptères dans la contamination, ainsi les disséminations internes peuvent être limitées par des isolements de blocs ou des traitements. Mais en fait, puisque nous multiplions des familles saines nous ne risquons que des contaminations venant de l'extérieur. Enfin, on peut placer les cultures dans des régions où les conditions du milieu : température, vent, humidité, sont défavorables à l'activité vectrice des pucerons.

Parmi toutes ces possibilités il faut faire un choix, car les utiliser toutes serait onéreux.

Dans le cas de la pomme de terre, les virus sont polyphages et très répandus, les vecteurs sont très ubiquistes, l'isolement des sources de virus est donc difficile, on doit utiliser la limitation naturelle de l'activité aphidienne, en plaçant les cultures de production de plants dans des zones isoclimatiques peu favorables. Dans le cas du fraisier, les virus sont pratiquement spécifiques au fraisier, le *Passerina* est un insecte confiné au fraisier cultivé, les zones sans culture de fraisier sont celles où l'on ne rencontre ni puceron, ni virus ; les règles d'isolement sont valables à elles seules, elles doivent être particulièrement sévères. En France, l'isolement minima exigé est de : 10 km de la bordure des zones de production ; de 1,5 km de toutes cultures isolées de fraisier ; et de 300 m de tout potager. La plantation doit être effectuée en carrés selon la méthode d'East-Malling.

La réglementation et l'organisation de la sélection sanitaire du fraisier date de 1951, trois organismes exécutifs se partagent le travail. La thermothérapie et les tests permettant d'assurer la production de 150 à 200 têtes de familles chaque année sont réalisés par le Centre Technique des Fruits et Légumes sous contrôle de l'I.N.R.A. Ce travail est entièrement subventionné. La multiplication des « super Elites » est assurée par le Syndicat National des Producteurs de Plants de Fraisiers. Les producteurs de plants doivent chaque année faire une demande à leur syndicat pour recevoir la totalité des plants nécessaires à leur ensouchement. Le contrôle au champ est effectué par les contrôleurs du plant de Pomme de terre.

En résumé, deux points caractérisent la sélection sanitaire du fraisier en France. D'une part, il n'y a jamais plus de trois ans entre le moment où le pied-mère, tête de famille, est testé en serre et celui où des descendants végétatifs sont distribués en cultures fruitières ; d'autre part, les règles d'isolement sont particulièrement sévères.

Résumé

La constitution chimique du fraisier a rendu longtemps impossible l'extraction et la transmission mécanique des virus qui affectent cette plante.

Une méthode de préinsolubilisation dans une solution de sulfate d'ammonium neutralisée a permis d'isoler 2 virus à partir de fraisiers infectés et de réaliser des transmissions mécaniques.

Le virus de la Mosaïque du tabac infecte naturellement le fraisier et y est disséminé par le *Passerina fragaefolii*.

Le virus I de Prentice est inoculable mécaniquement au *Fragaria vesca*, *Physalis floridana*, *Vigna sinensis*.

Les symptômes développés par l'inoculation mécanique du virus I sur le *Fragaria vesca* sont nettement plus faibles que lors d'une inoculation par le *Passerina fragaefolii*.

Attempts at extracting some strawberries viruses

Summary

The chemical composition of strawberries has for a long time prevented the extraction and the mechanical transmission of the viruses which affect this plant.

A method of « preinsolubilisation » in a neutralized solution of ammonium sulfate has made it possible to isolate 2 viruses from infected strawberries and to carry out mechanical transmissions.

The tobacco mosaïc virus naturally infects strawberries, spread by the *Passerina fragaefolii*.

Prentice virus I can be inoculated mechanically to *Fragaria vesca*, *Physalis floridana*, *Vigna sinensis*.

The symptoms displayed by the mechanical inoculation of virus I on *Fragaria vesca* are much slighter than when inoculated by the *Passerina fragaefolii*.

Extraktionsversuche verschiedener Viren der Erdbeere

Zusammenfassung

Die chemische Konstitution der Erdbeere hat lange Zeit die Extraktion und die mechanische Übertragung der diese Pflanze befallenden Viren unmöglich gemacht.

Durch eine Fällungsmethode mit Ammonium-Sulfatlösung gelang es, zwei Viren aus den infizierten Erdbeeren zu isolieren und mechanisch zu übertragen.

Der Tabaksmosaikvirus infiziert naturlich die Erdbeere und wird hier durch den *Passerina fragaefolii* verbreitet.

Der Virus I Prentice ist mechanisch auf *Fragaria vesca*, *Physalis floriadana*, und *Vigna sinensis* übertragbar.

Die durch Impfung mit Virus I auf *Fragaria vesca* übertragenen Symptome sind deutlich schwächer als bei einer Übertragung durch *Passerina fragaefolii*.